



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Odontología

Unidad de Posgrado

**Evaluación de la actividad antifúngica del gel de
Satureja brevicalyx Epling “Inca Muña” frente a
Candida spp. de pacientes portadores de prótesis**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Estomatología

AUTOR

Diana Esmeralda CASTILLO ANDAMAYO

ASESOR

Justiniano SOTOMAYOR CAMAYO

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Castillo D. Evaluación de la actividad antifúngica del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” frente a *Candida spp.* de pacientes portadores de prótesis [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Odontología, Unidad de Posgrado; 2017.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIDAD DE POSGRADO

ACTA Nº 030-FO-UPG-2017

GRADO ACADÉMICO DE DOCTOR EN ESTOMATOLOGÍA

En la Ciudad de Lima, a siete días del mes de setiembre del 2017, se reunió el Jurado Examinador de la Tesis titulada "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL GEL DE *Satureja brevicalyx* Epling "INCA MUÑA" FRENTE A *Candida spp.* DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS", sustentado por la magister:

DIANA ESMERALDA CASTILLO ANDAMAYO

para obtener el Grado Académico de Doctor en Estomatología; concluida la exposición, los miembros del Jurado Examinador formularon preguntas que fueron absueltas por el graduando y procedieron a la evaluación correspondiente, habiendo obtenido la siguiente calificación:

Excelente

Escala

19

Número

Diecinueve

Letras

En tal virtud, firmamos la presente Acta en cuatro originales y damos por concluido el Acto Académico de Sustentación.

Dr. VICTOR MANUEL CHUMPITAZ CERRATE

Presidente

Dr. CARLOS ALEJANDRO BELL CORTEZ

Miembro

Dr. GILMER TORRES RAMOS

Miembro

Dra. DORIS ELIZABETH SALCEDO MONCADA

Miembro

Dr. JUSTINIANO SOTOMAYOR CAMAYO

Miembro -Asesor

Escala de calificación

- ❖ Excelente 20, 19
- ❖ Muy bueno 18, 17
- ❖ Bueno 16, 15
- ❖ Aprobado 14
- ❖ Desaprobado 13 o menos

DEDICATORIA

A mi padres, esposo y familia que me apoyaron en todo momento , que hicieron posible cumplir mis objetivos en el ámbito profesional, académico y familiar.

AGRADECIMIENTOS

- A Dios por ser la luz que ilumina mi camino y llenarme de muchas bendiciones.
- A mis padres por ser los guías incondicionales de mi vida.
- A mi esposo por acompañarme en los momentos de debilidad y fortaleza.
- A mis asesores; Dr. Sotomayor, Dr. Bell, Dra Maurtua y Dra Cristóbal, Dr. Orejuela, Q.F León por apoyarme en todo el proceso de mi trabajo de investigación.
- A mi profesores del programa de doctorado que me orientaron a lo largo de mis estudios de posgrado.
- A la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por permitirme llevar a cabo mis estudios de doctorado.

INDICE

Portada	i
Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Indice general	iv
Índice de tablas	vi
Índice de figuras	ix
Resumen	xi
Abstract	xii
 CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	
1.1 Situación problemática	1
1.2 Formulación del problema	2
1.3 Justificación	2
1.4 Objetivos	3
1.4.1 Objetivo General	3
1.4.2 Objetivos específicos	3
1.5 Limitaciones	4
1.6 Consideraciones éticas	5

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación	6
2.2 Bases teóricas	10
2.3 Definición de Términos	21
2.4 Sistema de Hipótesis	22
2.4.1 Hipótesis general	22
2.4.2 Hipótesis específicas	22
2.5 Variables – Operacionalización de Variables	23

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1 Diseño de la investigación	24
3.2 Población y Muestra	24
3.2.1 Población de Estudio	24
3.2.2 Tamaño de la Muestra	24
3.2.3 Selección de la Muestra	25
3.2.4 Criterios de inclusión y exclusión	25
3.3 Técnicas, procedimientos e instrumentos de Recolección de datos	26
3.4 Procesamiento y Análisis de la información	32

CAPÍTULO 4: RESULTADOS 33**CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN** 53

CONCLUSIONES 59

RECOMENDACIONES 61

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 62

ANEXOS 69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Unidades formadoras de colonias (UFC) de los pacientes portadores de prótesis removible y no Portadores de prótesis.	41
Tabla 2. Supuesto de Normalidad de unidades formadoras de colonias (UFC) De pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.	41
Tabla 3. Comparación de las unidades formadoras de colonias (UFC) de los pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.	42
Tabla 4. Identificación de cepas fúngicas de pacientes no portadores de Prótesis.	42
Tabla 5. Identificación de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis total.	43
Tabla 6. Identificación de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica.	43
Tabla 7. Frecuencia de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.	44

- Tabla 8.** Frecuencia de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis removible según el tipo de prótesis removible. 44
- Tabla 9.** Actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cepas fúngicas aisladas de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y no portadores. 45
- Tabla 10.** Supuesto de Normalidad de la actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cepas fúngicas aisladas de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y no portadores. 45
- Tabla 11.** Comparación de la actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, con el Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y pacientes no portadores de prótesis. 46
- Tabla 12.** Actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cada tipo de cepas fúngicas aisladas de pacientes portadores de prótesis total. 47

- Taba 13.** Actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cada tipo de cepas fúngicas aisladas de pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica y no portadores de prótesis 48
- Tabla 14.** Comparación de la actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” con el Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) según el tipo de cepa fúngica aislada de pacientes portadores de prótesis total. 49
- Tabla 15.** Comparación de la actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” con el Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) según el tipo de cepa fúngica aislada de pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica y pacientes no portadores de prótesis. 51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Laboratorio de operaciones y procesos unitarios.	82
Figura 2. <i>Satureja brevicalyx Epling</i> “ Inca Muña	82
Figura 3. Destilador por arrastre a vapor	82
Figura 4. Destilación de aceite esencial	82
Figura 5. Materias primas utilizadas en la formulación de gel	83
Figura 6. Recipiente para preparación de gel	83
Figura 7. Inicio de la adición de materia prima	83
Figura 8. Adición de trietanolamina	84
Figura 9. Adición de aceite esencial	84
Figura 10. Envasado del gel de <i>Satureja brevicalyx Epling</i> “ Inca Muña”	84
Figura 11. Firma de consentimiento informado	85
Figura 12. Toma de muestra de pacientes no portadores de prótesis	85
Figura 13. Toma de muestra de paciente portador de Prótesis total	85
Figura 14. Toma de muestra de paciente portador de prótesis parcial removible metálica	85
Figura 15. Friccionamiento de las prótesis	86
Figura 16. Transporte de muestras	86
Figura 17. Estufa de incubación	87
Figura 18. Procesamiento de muestra pacientes portadores de prótesis removible	87
Figura 19. Procesamiento de muestra pacientes no portadores de protesis	87
Figura 20. Tinción Gram	87
Figura 21. Recolección de cepa fúngica	88

Figura 22. Vial germinativo	88
Figura 23. Prueba de tubo germinativo	88
Figura 24. Prueba de clamidospora	88
Figura 25. Carbohidratos	89
Figura 26. Auxonograma de carbohidratos	89
Figura 27. Inóculo	90
Figura 28. Agar líquido	90
Figura 29. Agar gelificado	90
Figura 30. Aplicación de gel <i>Satureja brevicalyx Epling</i> “Inca Muña”	91
Figura 31. Aplicación de gel miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel)	91
Figura 32. Vernier	91
Figura 33. Halo de inhibición con miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel)	92
Figura 34. Halo de inhibición con <i>Satureja brevicalyx Epling</i> Inca Muña	92
Figura 35. Halo de inhibición con <i>Satureja brevicalyx Epling</i> Inca Muña	92

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como propósito evaluar el efecto antifúngico de gel formulado con aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” frente a *Candida spp.* de pacientes portadores de prótesis. Los pacientes fueron divididos en tres grupos; pacientes no portadores de prótesis, pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica, pacientes portadores de prótesis total. A los pacientes no portadores se les recolectó muestras de saliva en frascos estériles y aquellos que portaban prótesis removible, se les solicitó colocarlas dentro de una bolsa hermética que contenía solución salina; se realizó un lavado de la prótesis friccionando sobre las superficies para el desprendimiento de placa. Todas las muestras fueron sembradas en placas petri que contenían agar Sabouraud con cloranfenicol, e incubadas a 37° C por 48 horas; se seleccionaron las colonias según características morfológicas y se resembró en agar Saboroud para realizar así la coloración Gram, prueba de tubo germinativo, producción de clamidospora y auxonograma de carbohidratos, todas esas pruebas para realizar la identificación del tipo de levadura; luego de ello se procedió a la prueba de difusión en pocillos para la determinación de la actividad antifúngica del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”. Los resultados que se obtuvieron fueron alto porcentaje de levaduras en pacientes portadores de prótesis total y parcial 78.02 %, en pacientes con prótesis total se observó *Candida albicans* en un 56.34 % y *Candida glabrata* 45.63 % y en pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica fue *Candida albicans* en un 25.35 % y *Candida glabrata* 5.63 %. Al evaluar los halos de inhibición de aquellas cepas expuestas al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca muña” se encontró diversos valores; *Candida glabrata* , 25.50 mm en prótesis total y 30.14 mm en prótesis parcial removible metálica, seguido *Candida guilliermondii* con 20.50 mm en prótesis total y *Candida no albicans* con 27 mm en prótesis parcial removible metálica. Se concluyó que la especie *Satureja brevicalyx* Epling “Inca muña” tiene efecto antifúngico frente a cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii* y *Candida no albicans*.

Palabras Clave: antifúngico, *Satureja spp.*, *Candida*, prótesis parcial removible metálica, prótesis.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the antifungal effect of gel formulated with essential oil of *Satureja brevicalyx* Epling "Inca muña" against *Candida spp.* of patients who wear prosthesis. The patients were divided in three groups; patients without prosthesis, patients with metallic removable partial dentures, patients with total dentures. Saliva samples of patients without prosthesis were collected into sterile containers and patients with removable prosthesis were asked to place them in an airtight bag containing saline solution; a wash of the prosthesis was performed by rubbing on the surfaces for plaque detachment. All samples were evaluated and seeded in petri dishes containing Sabouraud agar with chloramphenicol, incubated at 37 ° C for 48 hours, colonies were selected according to morphological characteristics and resaved on saboroud agar to perform the Gram staining, germ tube test, chlamydospore production and carbohydrate auxonogram, all these tests were used to carry out the identification of the fungus type, after the identification of fungals the diffusion test was carried out to determine the antifungal activity of the gel of *Satureja brevicalyx* Epling "Inca Muña." The results obtained were high percentage of fungal strains in patients with total and mettalic removable partial prosthesis with 78.02 %, in patients with total prosthesis *Candida albicans* was observed in 56.34 % and *Candida glabrata* 45.63 % and in patients with metallic removable partial dentures was *Candida albicans* at 25.35 % and *Candida glabrata* at 5.63 %. When fungals strains were exposed to the gel *Satureja brevicalyx* Epling "Inca Muña", inhibition zone diameters were obtained, being higher against *Candida glabrata*, 25.50 mm in total prosthesis and 30.14 mm in metallic removable partial prosthesis, followed by *Candida guillermondi* with 20.50 mm in total prosthesis and *Candida no albicans* with 27 mm in metallic removable partial denture. It was concluded that the species *Satureja brevicalyx* Epling "Inca Muña" has an antifungal effect against strains of *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guillermondi* and *Candida no albicans*.

Keywords: antifungal, *Satureja spp.*, *Candida albicans*, metallic removable partial, prosthesis.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Situación problemática

La Candidiasis es la micosis más importante y de mayor frecuencia en la cavidad bucal; afecta a ambos sexos y a cualquier edad, aunque son más frecuentes en los extremos de la vida. En el ser humano los hongos del género *Cándida* son habitantes habituales en boca, sistema gastrointestinal, tracto respiratorio, cavidad vaginal y piel; reside con mayor frecuencia entre los pliegues naturales que son sitios relativamente calientes y de mayor humedad, considerándose agentes infecciosos endógenos específicos.

Para inhibir el desarrollo de patógenos que causan estas enfermedades se necesita de agentes antibacterianos y antimicóticos, los cuales son sustancias de origen natural, sintética o semisintética que actúan inhibiendo los microorganismos¹; es por eso que la utilización de plantas medicinales como la *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” son una opción para el tratamiento de estas enfermedades, ya que dentro de su composición química presentan metabolitos que tienen acción antimicrobiana y antimicótica².

La presente investigación tiene importancia teórica, puesto que al evaluar el efecto de la *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” frente a pacientes que presentan candidiasis oral, se puede aportar al conocimiento científico formulando formas farmacéuticas antisépticas que contengan dentro de su composición química la propiedad de los aceites esenciales. Asimismo, tiene importancia social

contribuyendo a la creación de productos farmacéuticos como colutorios o geles; los cuales, pueden ser utilizados por la población que sufre la mencionada afección. El propósito de la presente investigación fue evaluar la actividad antifúngica del gel de ***Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”** frente a ***Candida spp.*** de pacientes portadores de prótesis removible.

1.2 Formulación del problema

¿Tendrá efecto antifúngico el gel de ***Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”** frente a ***Candida spp.*** de pacientes portadores de prótesis removible?

1.3 Justificación

La justificación del estudio se basa en una relevancia teórica, ya que al evaluar el efecto antifúngico de un gel formulado a base del aceite esencial de la *Satureja brevicalyx* Epling “Inca muña”; como principio activo frente a pacientes que padecen la candidiasis oral, permitirá de esta manera incrementar los conocimientos de profesionales en odontología sobre formas farmacéuticas elaboradas a base de plantas medicinales propias de nuestra biodiversidad generando alternativas de tratamiento para la mencionada afección.

La importancia práctica se basa en la formulación de un gel el cual podrá ser accesible a la población vulnerable de la candidiasis oral y asimismo disminuir el uso de medicinas sintética.

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 Objetivo General

Evaluar la actividad antifúngica del gel de ***Satureja brevicalyx* Epling** “Inca Muña” frente a ***Candida spp.*** de pacientes portadores de prótesis removible.

1.4.2 Objetivos específicos

1. Determinar las unidades formadoras de colonias (UFC) de los pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.
2. Comparar las unidades formadoras de colonias (UFC) de los pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.
3. Aislar e identificar el tipo de cepa fúngica de los pacientes portadores de prótesis removible y pacientes no portadores de prótesis.
4. Determinar la frecuencia de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.
5. Determinar la frecuencia de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis removible según el tipo de prótesis removible.
6. Determinar la actividad antifúngica in vitro del gel de ***Satureja brevicalyx* Epling** “Inca muña” , del miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) y el agua destilada frente cepas

fúngicas aisladas de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y no portadores de prótesis.

- 7.- Comparar la actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca muña” con el miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) y el agua destilada frente cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y pacientes no portadores.
8. Determinar la actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca muña”, del miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) y del agua destilada según el tipo de cepa fúngica aislada de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y no portadores de prótesis.
9. Comparar la actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca muña” con el miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) y el agua destilada según el tipo de cepa fúngica aislada de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y no portadores de prótesis.

1.5 Limitaciones

Dentro de las limitaciones del proyecto se pudo observar la poca disponibilidad de información sobre la especie en estudio, toda vez que no existe en la literatura científica suficientes estudios sobre la *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”

1.6 Consideraciones éticas

Dentro de las consideraciones éticas se consideró diversos aspectos en cada etapa de la investigación. El estudio fue aprobado por la escuela de posgrado de facultad de Odontología UNMSM (anexo 1) y comité de ética de la UNMSM (anexo 2). Asimismo, se solicitó la aprobación de las instituciones en las cuales se realizó la recolección y procedimientos microbiológicos; la Clinica Dental Docente UPLA (anexo 3), laboratorio de la UPCH (anexo 4). Previo a la recolección de las muestras se solicitó a los pacientes la autorización de participación mediante la firma de un consentimiento informado, en el cual se le daba a conocer los posibles riesgos, beneficios, procedimientos y datos importantes para conocimiento de los mismos (anexo 5). En la fase de recolección de las hojas *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, el laboratorio de operaciones y procesos unitarios (LOPU) de la Universidad del Centro del Perú permitió realizar la extracción de aceite esencial (anexo 6); así como para la elaboración del gel, el Instituto Bioquímico Dr. F. Remy SAC autorizó el uso de sus instalaciones (anexo 7). Para el descarte de las muestras en el presente estudio se basó en las normas dadas por el CIOMS (International Ethical Guidelines for biomedical research involving humans subjects)

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

En el 2014 Sharma S y Hegde V ³ realizaron un estudio el cual tuvo como propósito comparar el efecto antifúngico del aceite de *Melaleuca alternifolia* “árbol del té” y fluconazol los cuales eran mezclados con acondicionador de tejidos. Cepas de *C.albicans* fueron inoculadas y sembradas, por otro lado el fluconazol fue mezclado con visco-gel en concentraciones de 1 %, 3 %, 5 % y 10 % , al igual la *melaleuca* al 5 %, 10 %, 20 %, 25 %, 27.5 %, 30 % y 35 %; en ambos productos se determinó los halos de inhibición. Los promedios de inhibición del fluconazol + viscogel mostró un rango entre 6 a 36 mm a las 24 horas y decreció a los 6 mm al finalizar el séptimo día. En el caso de *Melaleuca* + visco gel varió los promedios entre 6 al 24 mm a las 24 horas y luego del séptimo día se mantuvo entre 6 a 23 mm, siendo las concentraciones de 30 % y 35 % las más significativas. Se concluyó que existe efecto antifúngico del aceite de *Melaleuca* al 30 % frente a *Candida albicans* lo cual fue similar al fluconazol 5 % evaluándolo a las 24 horas manteniéndose constante hasta el día séptimo a diferencia del fluconazol el cual se perdió por completo a medida que pasaron los días.

En el 2012 De Almeida F et al ⁴ , realizaron un estudio donde evaluaron la actividad antifúngica del aceite esencial del *Cinnamomun cassia* (canela) frente cepas de *Candida albicans* aislado de pacientes HIV-positivo y cepas ATCC 76485. Se realizaron aceites esenciales en concentraciones entre 1024 ug/mL y 4 ug/mL que fueron comparadas con miconazol, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) usando la técnica de dilución. Se concluyó que al igual que el miconazol el aceite tuvo actividad antifúngica con un CMI entre 128 a 64 ug/mL .

En el 2012 Bustillos L et al⁵, elaboraron un gel de *Punica granatum* (granada) para ser utilizado en el tratamiento clínico de la estomatitis subprotésica. El gel fue obtenido fue colocado sobre superficie protésica y secado al vacío para luego ser observado en microscopio electrónico de barrido, las muestras se cubrieron con una capa de oro por 15 minutos. Al observar las características de la superficie de la prótesis se demuestra la irregularidad de la misma lo que puede dar lugar a la presencia de *Candida* pero al colocar el gel sobre la prótesis se genera una superficie más homogénea permitiendo la incorporación del gel a la base de esta. Se concluyó que la granada es estable al ser utilizado como principio activo de un gel y también al colocar en la base protésica.

En el 2012 Bakhshi M et al⁶, compararon el efecto antifúngico de un enjuague de nistatina con extracto acuoso de ajos en pacientes con estomatitis, realizaron un ensayo clínico doble ciego, se dividieron los pacientes en dos grupos, aquellos que utilizaron nistatina fue en dosis de 100, 000 u/mL (20 gotas en cada momento del día) en suspensión, y la solución de ajo fue en concentración de 40mg/mL, ambas fueron utilizadas tres veces al día por 60 segundos; se le solicitó a los pacientes que usen su prótesis luego del enjuague evitando ingerir alimento por una hora durante 4 semanas. En los resultados se obtuvo cambios en la la longitud y ancho del eritema.

En el 2012 Saravia N et al⁷, realizaron una investigación el cual tuvo como propósito determinar la actividad antifúngica del extracto de etanol *Schinus molle* y fluconazol sobre *Candida albicans*. Para lo cual se recolectó plantas del departamento de Huancavelica para poder obtener un extracto etanólico de *Schinus molle* (molle) de 25 ug/mL, las cuales fueron embebidas en un disco al igual que el fluconazol, estos fueron colocados en una placa agar con *Candida albicans*, luego de 24 horas se leyeron los halos de inhibición obteniendo como resultado halos de inhibición mayores a 20mm con el extracto de *Schinus* a diferencia del

fluconazol que fue 31 mm. Llegaron a la conclusión que ambos tienen efectividad por lo cual el extracto podría ser utilizado como agente antimicótico.

En el 2011 Mohammand S et al⁸, realizaron un ensayo clínico doble ciego donde 80 pacientes portadores de prótesis y con estomatitis subprotésica fueron incluidos 40 de los pacientes pertenecieron al grupo control y los otros 40 al grupo de estudio. Se elaboró un gel del aceite esencial de *Satureja hortensis* (ajedrea) al 1 %, el cual debía ser aplicado en 1cm en la base de la dentadura y en la mucosa palatina dos veces al día (mañana y noche) por dos semanas; a los pacientes se les indicó una adecuada higiene; luego de 14 días se realizó la evaluación clínica y micológica. Se obtuvo como resultado una disminución en las colonias de *Candida* y eritema de la mucosa palatina al utilizar el gel.

En el 2009 Palacios Z et al⁹, evaluaron la actividad antifúngica de los extractos crudos de diclorometano-metanol, etanol y deccociones de inflorescencias, hojas y tallos de plantas silvestres y plantas in vitro de *Piper tuberculatum* “matico” sobre *Trichophyton rubrum* , *Microsporum canis* y *Mgypseum*. Se prepararon cuatro concentraciones (0,1; 0,5; 1,0 y 1,5 mg/mL, las cuales fueron evaluadas frente a siembras de dichos microorganismos que estuvieron inoculadas en placas Petri; para determinar la efectividad antifúngica se determinó la concentración mínima inhibitoria(CIM). Concluyeron que los extractos en estudio tuvieron actividad antifúngica al 100% en concentraciones de 0.5 a 1,5 mg/mL pero solamente para *T. Rubrum* y *M. Canis* a diferencia del *M. Gypseum* inhibieron el crecimiento en 70-95 %.

En el 2008 Cano C et al¹⁰, demostraron la actividad antimicótica in vitro y elucidaron los metabolitos del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña) proveniente de Junín frente a cepas de *Candida albicans*, *Trichophytun tonsurans*, *Trychophytun menagrophytes*, *Microsporun canis*, dentro de sus resultados y halos de inhibición de 35 mm al 50 % y 30 mm con el aceite esencial de muña al 100 % estos resultados se dieron en la

cepa de *Candida*; asimismo no se observó crecimiento fúngico en todo el diámetro de las placas con aceite esencial de muña al 50 % y 100 % para las otras cepas en estudio.

En el 2007 Carhuapoma M²; evaluó la citotoxicidad de la *Satureja brevicalyx* “*Inca muña*”, determinando que el aceite esencial confirma su alta bioactividad, siendo su concentración letal media (CL₅₀) de 13.35ug/mL y su dosis letal media (DL₅₀) de 655.26 mg/kg; considerándose ligeramente tóxica a esas dosis.

En el 2007 Muñoz A et al¹¹; refirieron que el timol y el carvacrol son compuestos fenólicos naturales, considerados como posibles agentes antioxidantes, antifúngicos y antibacteriales y están presentes en cantidades significativas en los aceites esenciales del género *Thymus*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* y *Lippia*.

En el 2007 Teixeira M et al¹²; evaluaron la actividad antifúngica de aceites esenciales y extractos etanólicos de 35 plantas medicinales que son de uso frecuente en Brazil, dentro de estas plantas se encontró a las especies; *Anthemis nobilis*, *Cyperus articulatus*, *Lippia alba*, *Mikania glomerata*, *Mentha arvensis*, las cuales tienen actividad antifúngica ya que dentro de sus compuestos químicos encontramos al linalool, alfa pineno, beta pineno y 1,8 cineol.

En el 2007 Mesa A, Montiel et al¹³; evaluaron la actividad in vitro anticandida de aceite esenciales de plantas de la familia *Piperaceae*, ya que dentro de su composición presenta lignanos y flavonoides, dando como resultados que las plantas *P. Sanctifelisis* y *Piper spp* tienen efectividad contra levaduras.

En el 2005 Chami N et al¹⁴; estudiaron la actividad anticandida de dos principios activos contenidos en el orégano; carvacrol y eugenol, estos compuestos fueron

evaluados al 0.1 % y 0.2 % respectivamente durante el crecimiento de la *Candida albicans*, la candidiasis oral fue inducida en ratas inmunosuprimidas; luego de la aplicación de estas sustancias, el número de colonias fue evaluado por 8 días consecutivos y fueron comparados con un grupo control el cual recibió nistatina como fármaco gold standard. Los resultados *in vitro* indicaron que el carvacrol y eugenol tuvieron efecto antifúngico al igual que el control positivo.

2.2 Bases teóricas

La *Candida albicans* es una levadura que reside en mucosas ya sea oral, vaginal o gastrointestinal, puede adherirse a proteínas de la saliva y a bacterias de la cavidad oral originando la patogénesis de la enfermedad; esta cepa fúngica puede ser dañina cuando el paciente se encuentra inmunosuprimido, se puede encontrar colonias entre el 5-50 % en mucosas de individuos sanos;¹⁵ y en aquellos pacientes portadores de prótesis.^{16,17} Se adhiere sobre la superficie de la prótesis ya que la placa formada por *Streptococcus mutans* en presencia sacarosa es un factor por el cual la adherencia fúngica se evidencia en las prótesis dentales causando inflamación clínica.¹⁸ Sin embargo existen otras especies de *Candida* que se pueden encontrar en paciente portadores con prótesis, entre ellos encontramos; *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis*.¹³

La candidosis o candidiasis es causado por la *Candida albicans* pero existen otras especies como *C. Tropicalis*, *C. Glabrata*, *C. Parapsilosis* y *C. Krusei*, las cuales son aisladas de la saliva de pacientes portadores de prótesis completas y parciales;¹⁹ puede ser considerada a menudo como una infección secundaria, la cual se puede encontrar superpuesta a una condición médica del paciente.²⁰ Clínicamente los

individuos con una reducida inmunidad mediada por células frente a *Candida* inevitablemente adquieren candidiasis oral²¹; Además se dice que la candidosis o candidiasis oral en el recién nacido o en la vejez puede estar relacionada con deficiencias del timo; asimismo se dice que la candidiasis se considera como la enfermedad del paciente enfermo.^{15,22}

Existen factores que afectan la distribución de *Candida* en la cavidad oral, estos son²³:

Saliva: Según diversos estudios se ha determinado que la reducción de los niveles de humedad en la cavidad bucal, favorece el crecimiento de bacterias como *Staphylococcus aureus*, que son resistentes a la desecación e inhiben a otros microorganismos comensales que necesitan de altos niveles de humedad. Por otra parte, se ha podido llegar a la conclusión de que en presencia de pH salival bajo y de altas tensiones de oxígeno se altera el medio ambiente bucal, trayendo como resultado una reducción en el número de microorganismos de los géneros *Veillonella*, *Neisseria* y *Micrococcus*, así como un incremento en el número de *S. mutans* y de especies pertenecientes a los Géneros *Candida* y *Lactobacillus*.

pH: El medio ambiente ácido favorece la colonización de la cavidad bucal por parte de especies de *Candida*.

Adherencia: Se ha sugerido que los mecanismos de adherencia entre *C. albicans* y el hospedero están involucradas interacciones entre los ligandos de *Candida* y los receptores de las células hospederas.

Hidrofobicidad de la superficie celular: Se conoce como hidrofobicidad a cierta característica relacionada a la repelencia al agua, donde la superficie celular está

relacionada con la adherencia de blastosporas de *Candida* a las células epiteliales humanas.

Bacterias de la cavidad bucal: Las bacterias pueden contribuir a la colonización y proliferación de especies de *Candida* en la cavidad bucal. Un estudio realizado por Jenkinson y colaboradores, puso en evidencia que la coagregación de *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus anginosus* con *C. albicans* se incrementa en ausencia de glucosa.

Hifas: Se ha demostrado que existe una estrecha correlación entre la formación del tubo germinal y el incremento de la adherencia de *C. albicans* a las células epiteliales bucales, por lo que se ha sugerido que la correlación puede ser uno de los mecanismos relacionados con la virulencia por parte de las especies de *Candida*.

Enzimas: Según estudios realizados por Barrett-Bee y colaboradores, revelaron que la Fosfolipasa A y la Lisofosfolipasa producidas por cepas de *C. albicans* firmemente adheridas a las células epiteliales bucales, eran las fosfolipasas con mayor actividad enzimática.

Por otra parte, actualmente consideramos las siguientes formas clínicas de candidiasis oral: Candidiasis pseudomembranosa (aguda-crónica), Candidiasis eritematosa (aguda-crónica), Candidiasis hiperplásica (leucoplásica), lesiones asociadas (estomatitis protética, queilitis angular, glositis rómbica, queilitis exfoliativa), candidiasis mucocutáneas (crónicas) ²⁴, sin embargo, la forma pseudomembranosa de la Candidiasis oral o muguet es la presentación clínica mejor conocida. ^{25,26}

La mucosa oral presenta propiedades antifúngicas que protegen contra la invasión candidiásica, gracias a la presencia de ciertas proteínas y otros factores no

determinados.^{25,23} Durante la infección oral con *Cándida*, se genera en la mucosa oral un gran número de citoquinas pro-inflamatorias e inmunorreguladora, teniendo como principales fuentes las citoquinas que son células epiteliales, en la cual mantienen un papel central en la protección contra hongos. Estas citoquinas pueden conducir la quimiotaxis y funciones efectoras de la innata y / o las células efectoras de adaptación, tales como la infiltración de neutrófilos y células T en inmunocompetentes, y CD8 + T-cells en VIH + anfitriones.²⁷

El género *Candida* comprende más de 150 especies que se caracterizan principalmente por ser adquiridas por contacto sexual, de las cuales solamente algunas de éstas son patógenas para el hombre, siendo la *Candida albicans*, la más frecuente y virulenta.^{28,29}

Se ha encontrado que en la cavidad oral se presenta con una frecuencia que oscila entre un 20 % y un 70 % según diversos estudios²⁴, esto se debe a que la cavidad oral constituye un ambiente favorable para la colonización de microorganismos oportunistas como los hongos del género *Candida*, la cual posee la mayor adherencia a superficie de células epiteliales bucales a comparación de otras especies de este género, detectándose con más frecuencia tanto en la mucosa del paladar como en las prótesis de pacientes con estomatitis subprotésica^{30,31}; este último se describe como un proceso primario de inflamación la cual se ubica en la mucosa del paladar cuando es portador de prótesis total o parcial¹⁷, en la sintomatología la mayoría de veces es asintomático;³² sin embargo se puede sentir dolor o quemazón, el diagnóstico de esta enfermedad se da cuando se realiza una examen clínico observando eritema e inflamación de mucosa.¹⁶ Su clasificación fue descrita por Newton; hiperemia puntiforme simple (tipo I), hiperemia difusa (tipo II)

e hiperplasia nodular del área que cubre la prótesis (tipo III). Dentro de la etiología se pueden encontrar varios parámetros como: acumulación de placa por falta de higiene, trauma, infecciones fúngicas y bacterianas , sistema inmune deficiente, enfermedades sistémicas, hábito de fumar, uso de prótesis durante las noches, reacción alérgica a algún material de la prótesis.^{18,33,34,35}

La prevalencia de la estomatitis se da con mayor frecuencia en las prótesis totales al compararlo con las prótesis parciales removible(PPR); sin embargo estudios hacen referencia que pacientes portadores de PPR puede sufrir este tipo de inflamación, las diferencias en el bajo porcentaje se debe a que ambos tipos de prótesis tienen diferentes características como por ejemplo, el uso de resina acrílica y metal, la cantidad de cobertura en el tejido oral y diversos factores como; soporte, retención, materiales de fabricación, etc. La prevalencia de estomatitis en pacientes portadores de PPR varía entre 1.1 % y 36.7 %, se presenta con mayor frecuencia en el maxilar superior que el inferior; asimismo según el tipo de estomatitis subprotésica se evidencia al I y III; estudios hacen referencia que se debe a la presencia de acúmulo de placa y *Candida*.³⁵

Estudios reportaron alrededor del mundo una prevalencia de estomatitis subprotésica entre 11 % al 66.7 %, esto dependerá del tipo de población y sus características^{16,17}; en Chile se mostró en un 22.3 % en pacientes mayor de 65 años, Alemania con una prevalencia de 18.3 % en adultos entre 65 y 74 años.¹⁶

La presencia de hongos está relacionado con el volumen de secreción salival, hábito de fumar, hábitos alimenticios y consumo de alcohol.¹⁸

Para el tratamiento de la estomatitis protésica encontramos en primer lugar a la educación en la higiene, para lo cual se indica al paciente el evitar usar la prótesis en las noches, colocar las prótesis en sustancias químicas como Clorhexidina y seguir una terapia antifúngica.¹⁸

Paciente que son medicados con miconazol (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK), al aplicarse en la superficie de la prótesis tres veces al día después de la higiene de la misma durante 15 días hizo posible un tratamiento exitoso en la reducción de hongos.¹⁸

Los fármacos utilizados para la inhibición de crecimiento fúngico permiten en su mayoría la inhibición de *Candida albicans*, entre ellos encontramos clorhexidina, clotrimazol, fluconazol y nistatina.^{17,36}

Asimismo el miconazol oral en gel; nombre comercial Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK; es un fármaco prescrito para el tratamiento de infecciones con cándida, este puede ser aplicado de forma tópica o sistémica, es un antimicótico útil para el tratamiento de candidiasis oral , genital y cutánea y para la profilaxis antifúngica en pacientes inmunosuprimidos. El medicamento se absorbe poco después de la administración oral, y la aplicación tópica también conduce a una absorción sistémica mínima.^{17,37,38}

Los fármacos sintéticos presentan muchas ventajas pero sin embargo se debe tener en cuenta que en oportunidades puede ser perjudicial para la salud al interactuar con otras sustancias químicas; no se recomienda utilizar miconazol gel si la persona

está bajo medicamentos como algunos antihistamínicos, drogas reguladoras de lípidos, midazolan entre otros.³⁷

Estudios realizados en pacientes con estomatitis subprotésica y que presentaban *Candida albicans* a ser tratados con miconazol al 2 % en gel (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) tres y cuatro veces al día mostraron efectividad , ya que luego de finalizar el tratamiento se tomaron muestras a los dos días y los resultados fueron negativos evidenciando ausencia de la *Candida*.³⁹

Hoy en día existen tratamientos las cuales tienen su origen natural; la medicina natural y tradicional nos brinda muchas alternativas que tienen el objetivo de prevenir y tratar las enfermedades, para ello, utilizan recursos biológicos naturales que junto con conductas saludables mejorar la calidad de vida de las personas.⁴⁰

Encontramos diversas técnicas en la utilización de la medicina natural y tradicional, entre ellas se encuentra: la homeopatía, la fitoterapia, la acupuntura, la ozonoterapia, la apiterapia, etc.⁴⁰

Dentro de la fitoterapia se utiliza los aceites esenciales; que son considerados como metabolitos secundarios producidos por varias plantas medicinales que poseen propiedades antibacterianas, antifúngicas, y antioxidantes.⁴¹ Existen especies vegetales como; *Citrus aurantifolia*, *Cinnamomum zeylanicum* (canela) que han demostrado un potencial efecto antifúngico.³⁶

Estudios han reportado sustancias naturales que al ser incorporadas a los acondicionadores de tejido mostraron un efecto antifúngico positivo; entre ellos se encontró los siguientes aceite esenciales; *Melaleuca alternifolia*, la cual al ser

comparada con la nistatina mostró efectividad similar; el aceite de *Zataria multiflora* y extracto de *Punica granatum* al ser comparados con miconazol al 2% mostraron ser efectivos.³³

Un enjuague a base de nistatina y otro con solución acuosa de ajos demostraron una reducción del eritema en pacientes con estomatitis protésica.³³ En el tratamiento de dicha inflamación se han realizado también ensayos donde las terapias como la miel de abeja, el láser, la sábila dieron buenos resultados.⁴⁰

Aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling (Inca muña)

La *Satureja brevicalyx*, es una planta aromática que está conformado por metabolitos secundarios que son biosintetizados a partir de metabolitos primarios, y su distribución es restringida a ciertas plantas y microorganismos^{2,42}. Uno de estos metabolitos son los aceites esenciales que son productos obtenidos del reino vegetal en donde se hallan concentrados sabores y aromas característicos^{2,43,44}. Son productos volátiles de naturaleza compleja, se denominan aceites esenciales a los productos que se pueden obtener por arrastre con corriente de vapor de agua o por expresión del pericarpio de ciertos frutos⁴⁴.

Los aceites esenciales, son generalmente líquidos a temperaturas ambiente aunque algunos solidifican a baja temperatura, la mayoría son transparentes, incoloros y ligeramente coloreados; algunos son inflamables, densos, otros son insolubles en agua aunque hay ciertas esencias que son parcialmente solubles porque alguno de sus componentes se solubiliza, como los fenoles.⁴⁴

La composición química de los aceites esenciales depende de varios factores como: El origen botánico, el ciclo del vegetal, las condiciones ambientales, las características del cultivo y el procedimiento de obtención. Los compuestos presentes en los aceites esenciales se pueden clasificar en terpenoides y no terpenoides.⁴⁴

1.- Terpenoides: Los compuestos terpénicos proceden de la condensación del isopreno y pueden tener o no oxígeno. Los que carecen de oxígeno son hidrocarburos: Monoterpenos y sesquiterpenos que pueden ser aromáticos o alifáticos. Los que poseen oxígeno son terpenos funcionalizados con función alcohol, fenol, aldehído, cetona, éter, éster o peróxido.⁴⁴

Monoterpenos

Estas sustancias constituyen un importante grupo de hidrocarburos, alcoholes y cetonas, que son los componentes mayoritarios de los aceites esenciales obtenidos de hojas, raíces y corteza de varias plantas, algas y animales. Se han aislado y caracterizado derivados halogenados, especialmente de organismos vegetales y animales de origen marino. Pueden subdividirse en tres clases según posean o no anillos: Acíclicos, monicíclicos y bicíclicos. Muchos de los derivados acíclicos de este grupo dan fácilmente reacciones de ciclación y los bicíclicos de reordenamiento, lo cual complica en alto grado los procesos de aislamiento y las características de los mismos.⁴⁴

Sesquiterpenos

Este grupo de terpenoides puede considerarse por tres moléculas de isopreno; presentan a veces excepciones a la unión cabeza-cola postulada por la regla del isopreno. Los hidrocarburos sesquiterpénicos, son con frecuencia constituyentes de los aceites esenciales y a semejanza de los monoterpenos pueden ser líquidos a la temperatura ambiente; con los siguientes problemas de purificación que ello implica.⁴⁴

Dentro de los grupos funcionales de compuestos monoterpenos y sesquiterpenos encontramos de tipo fenólico, como el timol y carvacrol que son antimicrobianos de primer orden; alcoholes, como linalol y α terpineol, antimicrobianos de segundo orden; los fenoles por su estructura son similares a los alcoholes, sin embargo, el grupo hidroxilo y el núcleo bencénico, unido a él directamente, ejercen una gran influencia mutua, lo que condiciona a los fenoles tengan propiedades específicas que los diferencian de los alcoholes aromáticos⁴⁴; y los compuestos cetónicos, como pulegona, mentona, isomentona, cis- isopulegona, trans-isopulegona, antimicrobianos de tercer orden².

La clasificación taxonómica de la *Satureja brevicalyx*, según el sistema de clasificación de A. Cronquist, la especie se ubica en la siguiente categoría taxonómica (anexo 8):

DIVISIÓN : *Magnoliophyta*
 CLASE : *Magnoliopsida*
 Sub CLASE : *Asteridae*
 ORDEN : *Limiales*
 FAMILIA : *Lamiaceae*
 GÉNERO : *Satureja*
 ESPECIE : *Satureja brevicalyx Epling*

Sinonimia vulgar: urq muña, wayra muña, sachá muña, muña, inca muña, salqa muña, cjunumuña, cjuna, konoc y orégano de los incas ².

El género *Satureja* cuenta con más de 200 especies en el mundo, todas estas especies son de regiones templadas y tropicales de ambos hemisferios de la tierra. En el Perú se han identificado unas 26 especies en donde la *Satureja brevicalyx* es que se encuentra ubicada en las regiones alto andinas sureñas del Perú ².

La *Satureja brevicalyx* crece en la parte sur andina del Perú (Ayacucho, Junín, Apurímac, Cuzco y Puno), entre las altitudes de 3300-3800 msnm, es de predilección por laderas de suelos areno-arcillosos y pedregosos ^{45.46}. En cuanto a su descripción botánica es una planta de porte arbustiva perennifolia, erguida de 1.0-1.5m de altura, aromática y pubescente. Hojas muy pequeñas, espatuladas, sésiles, verticiladas y opuestas, de margen entero; sus flores son blancas, solitarias, axiales, tetrámeras, bilabiadas, cáliz gamosépalo, corola gamopétala, androceo con estambres

didínamos, gineceo con ovario súpero, estilo apical y estigma simple. Florece en primavera y verano; según sus informaciones etnobotánicas y etnofarmacológicas es usada para resolver problemas gastrointestinales y para la corrección de desórdenes menstruales. Es digestivo, contra la gastritis, flatulencia y antiespasmódica; también es usado como analgésico frotando las hojas en caso de dolores musculares y tortícolis².

Dentro de la composición química del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* podemos encontrar varios constituyentes como mentonas, pulegonas, linalol, etc.² (anexo 9).

2.3 Definición de Términos

Antifúngico: sustancia que inhibe el crecimiento de hongos, provocando su muerte, su uso se puede dar en forma tópica y sistémica.¹⁷

Aceite esencial: sustancias químicas extraídas de las plantas, aromáticas, presentan propiedades como efecto antibacteriano, antiinflamatorio y antifúngico.⁴⁴

Estomatitis subprotésica: proceso primario de inflamación la cual se ubica en la mucosa oral cuando es portador de prótesis.³⁰

Candidosis: llamada también candidiasis, es una enfermedad infecciosa que puede darse en la piel y mucosa, esta es causada por la presencia de hongos.²²

2.4 Sistema de Hipótesis

2.4.1 Hipótesis general

El gel de **Satureja brevicalyx** Epling “Inca Muña” tiene actividad antifúngica frente a **Candida spp.** de pacientes portadores de prótesis removible.

2.4.2 Hipótesis específicas

1. Existe una alta frecuencia de **Candida spp.** en pacientes portadores de prótesis removible.
2. La cepa *Candida albicans* es la más frecuente en los pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica y prótesis total.
3. Existe igual efectividad antifúngica de la **Satureja brevicalyx** “Inca Muña” en comparación con el miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK).

2.5 Variables

Variable dependiente

Efecto antifúngico

Variable Independiente

Sustancias experimentales (miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) e Inca Muña)

Covariable

Tipo de prótesis

2.5 Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	TIPO	ESCALA	VALORES
Efecto antifúngico (variable dependiente)	Capacidad que presente una sustancia o fármaco para inhibir y/o producir la muerte de un hongo	Reducción de unidades formadoras de colonias	-Conteo de unidades formadoras de colonias disminuidas -Medición de halos de inhibición	Cuantitativo	razón	UFC mm
Sustancias experimentales (Variable independiente)	Sustancias que actúa inhibiendo los microorganismos ejerciendo su acción a nivel molecular	Sustancias de origen natural y sintético	Sustancia con efecto antifúngico	Cualitativo	nominal	-Gel inca muña -Miconazol 20mg/g (Daktarin®gel, Janssen-Cilag, High Wycombe UK)
Tipo de prótesis (covariable)	Elemento artificial utilizado para reemplazar piezas dentarias perdidas	Elemento artificial que abarba dentadura postiza parcial y total	Prótesis registrada según el número de piezas reemplazar	Cualitativa	nominal	-Prótesis parcial removible metálica -Prótesis total -No portador de prótesis

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1 Diseño de investigación

Estudio analítico, experimental de corte transversal.

3.2 Población y Muestra

3.2.1 Población de estudio

Lo constituyó los pacientes portadores y no portadores de prótesis parcial removible metálica y prótesis total que acudieron a la clínica dental docente de la Universidad Peruana Los Andes- Filial Lima.

3.2.1 Tamaño de muestra

Se realizó un estudio piloto al cual se le aplicó la fórmula de comparación de medias:

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 * (S_1^2 + S_2^2)}{(X_1 - X_2)^2}$$

Luego de aplicar la fórmula se obtuvo:

$Z_{1-\alpha/2} = 1.96$		$(1.96+0.842)^2 * (4.313+5.292)$
$Z_{1-\beta} = 0.842$	$n =$	$(18.24-16.28)^2$
$S_1^2 = 4.313$	$n =$	<u>75.4108144</u>
$S_2^2 = 5.292$		3.8416
$X_1 = 18.24$	$n =$	19.6300537
$X_2 = 16.28$		

3.2.3 Selección de la muestra

Luego de aplicar la fórmula para determinar la muestra se consideró seleccionar a 60 pacientes de los cuales se distribuyó en tres grupos de 20 cada uno de ellos (pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica, paciente portadores de prótesis total y pacientes no portadores de prótesis)

3.2.4 Criterios de inclusión

Pacientes portadores de prótesis removible total y parcial.

Pacientes no utilizan prótesis.

Pacientes ASA-I (Sistémicamente sano).

Pacientes mayores de edad (18 años a 70 años).

Criterios de exclusión

Pacientes diabéticos.

Pacientes con xerostomía.

Pacientes con trastornos neurológicos.

Pacientes inmunosuprimidos.

Pacientes con aparatología ortodónticas.

3.3. Técnicas de recolección de datos

Procedimiento de recolección de datos

MÉTODO

Observación estructurada:

Aislamiento e identificación de hongos.

INSTRUMENTO:

Vernier

Ficha de recolección de datos (anexo 10)

CAPACITACIÓN

Se realizó un entrenamiento para los procedimientos de recolección de muestra así como la inoculación y el sembrado de las cepas en las placas de petri con los medios de cultivo selectivo para hongos, bajo la supervisión de la Mg. Dora Maurtua y Mg. Ruth Cristobal, pertenecientes al Departamento de Microbiología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Se realizó la capacitación en la formulación del gel a base de **Satureja brevicalyx Epling “Inca Muña”**, bajo la **supervisión de** Dr. QF. Carlos Alejandro Bell Cortez; docente principal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Marcos

TÉCNICAS

Para iniciar la recolección de datos en pacientes que acudieron entre Junio a Julio del 2016 a la Clínica Dental Docente, se solicitó autorización de la Dirección Académica de la Clínica Dental Docente de la Universidad Peruana Los Andes -Filial Lima (anexo 3). La población en estudio fue evaluada tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión; cada participante que aceptaba ser parte del

estudio se le solicitó que firme un consentimiento informado en el cual se le detallaba los procedimientos de la investigación. (anexo 5).

La extracción del aceite esencial en la presente investigación fue tomando en cuenta las hojas de *Satureja brevicalyx* Epling (Inca muña) que se encontraban a inicio de su floración de una población vegetal con crecimiento en laderas naturales a orillas de un riachuelo de la comunidad de Pucará (3300 m.s.n.m), provincia de Huancayo, departamento de Junín a mediados de Junio del 2016.

Las hojas se desecaron bajo sombra a temperatura ambiente (21°C), a una presión de 0.72 atmósferas, en los ambientes del Laboratorio de química de la Universidad del Centro del Perú por 7 días, hasta obtener la muestra seca y fueron conservados en bolsas de papel kraft hasta su utilización, la cual fue la última semana de Junio.

A partir de 10 kg de hojas secas fue sometidos a destilación por el método de arrastre por vapor de agua en un equipo de destilación de acero inoxidable. El destilado se separó tomando en cuenta sus propiedades de inmiscibilidad y diferencia de densidades entre el agua y el aceite esencial, utilizando una pera de separación de vidrio, se deshidrató las impurezas de agua en el aceite esencial con Na_2SO_4 anhidro, se filtró, guardándose en un frasco de vidrio color ámbar bajo refrigeración a una temperatura de 4°C (figura 1,2,3,4, anexo 11)

Para realizar la formulación farmacéutica se emplearon materias primas de calidad U.S.P (figura 5, anexo 12), un recipiente debidamente desinfectado (figura 6, anexo 12) en el cual se colocó agua destilada 464.25 g (figura 7, anexo 12) al cual se le adicionó con agitación Glydant plus 2 g, seguidamente, se agregó 4 g de carbopol ULTREX 20 hasta humectación; luego se procedió a homogenizar agregando luego

5 g glicerina y 0.75 g EDTA, para neutralizar y formar el gel se adicionó 4 g de TRIETANOLAMINA (figura 8, anexo 12) y finalmente cuando la mezcla esta homogénea se incorporó el aceite esencial de Inca Muña (figura 9, anexo 12), el cual luego de mezclarlo es envasado y rotulado en frascos estériles los cuales permanecieron a temperatura ambiente (figura 10, anexo 12).

Luego de seleccionado los pacientes y formulado el gel a base de *Satureja brevicalyx Epling* “Inca Muña” se dividió a los pacientes en los siguientes grupos:

Grupo 1 (control): Pacientes no portadores de prótesis.

Grupo 2 (experimental): Pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica.

Grupo 3 (experimental): Pacientes portadores de prótesis total.

TOMA DE MUESTRA

Para iniciar con la toma de muestra se explicó a cada paciente sobre los procedimientos y metodología del estudio, para lo cual si aceptaban participar debían dar su autorización mediante la firma de un consentimiento informado (figura 11 , anexo 13). Se colectaron aproximadamente 2 mL de muestra de saliva de los pacientes no portadores de prótesis en vasos de toma de muestra estériles (figura 12, anexo 13). En el caso de los pacientes con prótesis parcial metálica y prótesis completa, las prótesis fueron colocadas en bolsas herméticas de primer uso y se agregó 100 mL de solución salina 0.85 % y se realizó un lavado friccionando sobre las superficies para el desprendimiento de la placa (figura, 13,14,15 , anexo 13).

Las muestras fueron conservadas en cadena de frío hasta su llegada al laboratorio de Bacteriología para su análisis (figura 16, anexo 13).

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

A partir de la muestra de saliva colectada de cada paciente no portador, se realizaron diluciones seriadas decimales hasta 10^{-3} . Para esto se utilizó como diluyente solución salina fisiológica 0.85 %. De cada dilución y de la muestra original, se sembró 0.1 mL mediante dispersión en placas con agar Sabouraud con cloranfenicol por duplicado. Las placas fueron incubadas a 37°C por 48 horas en aerobiosis. Se procedió de la misma manera con las muestras de pacientes portadores de prótesis total y parcial removible. (figura 17,18,19, anexo 14)

Después de la incubación, se procedió a seleccionar colonias de acuerdo a sus características morfológicas. Las colonias de *Candida* se presentan como colonias circulares, de borde entero y aspecto cremoso. El color varía entre blanco y crema.

A las colonias seleccionadas, se les resembró en agar Sabouraud y se les realizó coloración de Gram (figura 20, anexo 14), prueba de tubo germinativo, producción de clamidospora y asimilación de carbohidratos

PRUEBA DE TUBO GERMINATIVO

Las colonias que a la coloración de Gram presentaban forma de levaduras, se les colocaba en tubos que contenían 1 mL de plasma humano. Los tubos fueron incubados a 37° C por 2 horas. Al término de la incubación se procedió a tomar una gota de la muestra y se colocó en un portaobjeto cubriendo con laminilla. La observación al microscopio fue al aumento de 400X. De ser positiva a la prueba se

observaba una prolongación pequeña naciendo de la levadura que no debía exceder del diámetro de la levadura y no presentar constricciones (figura 21, 22, 23 anexo 14).

PRUEBA DE CLAMIDOSPORA

Las colonias seleccionadas fueron sembradas en agar Clamidospora, realizando cortes que atraviesan el agar, de manera que la colonia terminara dentro del agar y luego se colocó sobre la siembra una laminilla, creando un ambiente de microaerobiosis.

Las placas fueron incubadas a medio ambiente durante tres días. Después de la incubación, la laminilla se retiró y se colocó en un portaobjetos que contenía una gota de KOH 10 %. La observación al microscopio fue a 400X. De tener un resultado positivo, se observó levaduras con paredes engrosadas y formación de hifas (figura 24, anexo 14).

AUXONOGRAMA DE CARBOHIDRATOS

Las colonias seleccionadas fueron incubadas por 24 horas y sembradas en un medio base para carbohidratos mediante hisopado. Luego fueron colocados los discos impregnados con los carbohidratos a ensayar. Las placas fueron incubadas a 37° C por 48 horas. De utilizar el carbohidrato, alrededor del disco se observó un mayor crecimiento de la levadura (figura 25, 26 anexo 14).

PRUEBA DE DIFUSIÓN EN POCILLOS PARA DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE GEL

Las cepas identificadas fueron enfrentadas al gel preparado. Se tuvo como control positivo miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) y como control negativo agua destilada. La técnica usada fue el método de pocillo difusión en agar Mueller Hinton. Las cepas fueron reactivadas en caldo Mueller Hinton y tuvieron 24 horas de incubación. Luego, fueron llevadas a escala de MacFarland 0.5. De esta preparación, se tomó 1 mL y se colocó en placa Petri estéril (figura 27, anexo 14), a la cual se agregó agar licuado de Mueller Hinton (figura 28, anexo 14). Se dejó solidificar y se procedió a realizar pocillos de 6 mm de diámetro (figura 29, anexo 14). En cada pocillo, se colocó 100 µL del gel a ensayar, el control positivo y el control negativo (figura 30,31, anexo 14). Las placas fueron incubadas a 37° C por 24 horas. Después se midieron los halos de inhibición usando un vernier (figura 32, anexo 14).

3.4 Procesamiento y análisis de la información

Se realizó el análisis estadístico univariado y bivariado en el programa STATA vs.

Análisis univariado:

De las variables cuantitativas se obtuvo las medidas de tendencia central (media, moda y mediana), y las medidas de dispersión (desviación estándar y varianza).

Análisis bivariado:

Se realizó el análisis de la relación entre variables; si presentó distribución normal, se utilizó la prueba t y si no tuvo distribución normal la prueba de U Mann Whitney.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS

El presente estudio se basó en la evaluación de la actividad antifúngica del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “ Inca Muña” frente a *Candida spp.* de pacientes portadores de prótesis; para ello se realizó un estudio piloto el cual permitió tener capacitación en la metodología de recolección de datos así como determinar el tamaño muestral obteniendo de 60 pacientes, los cuales fueron divididos en tres grupo, se contó con la participación de 20 pacientes por grupo; los cuales fueron portadores de prótesis removible total, prótesis parcial metálica así como pacientes que no portaban prótesis.

Al realizar la caracterización de las levaduras se obtuvieron microscópicamente las siguientes morfologías; levaduras alargadas, ovaladas y algunas gemando. (figura 20, anexo 14).

Para la identificación de *Candida albicans* en la prueba de tubo germinativo se observó la presencia de levaduras con una pequeña prolongación correspondiente a una prueba positiva (figura 23, anexo 14); asimismo para la prueba de clamidospora las levaduras engrosadas con presencia de hifas correspondían a *Candida albicans* (figura 24, anexo 14).

Mediante la prueba de auxonograma de carbohidratos, las cepas más frecuentes en los pacientes portadores de prótesis removible metálica y no portadores de prótesis removible fueron las siguientes cepas; *Candida albicans*, *Candida no albicans*, *Candida glabrata* y *Candida guilliermondi* (tabla 4,5,6) (figura 25, 26 anexo 14).

En la tabla 1 podemos observar el promedio y mediana como medidas de tendencia central; la D.E (desviación estándar) y DIC (dispersión intercuartílica) como medidas de dispersión; también notamos las medidas de forma, skewness y kurtosis, cuyos valores ideales son 0 y 3 respectivamente. Otra prueba importante es el CV (coeficiente de variación), cuyo valor nos hace referencia al nivel de dispersión que se tienen en los datos; valores menores o igual a 33%, hacen referencia a una dispersión baja o aceptable, lo que indica que se puede utilizar el promedio y desviación estándar; si este valor es mayor a 33% es preferible usar mediana y DIC.

Para determinar las unidades formadoras de colonia (UFC) nos dicen que los tres grupos (prótesis total, parcial removible metálica y control) presentan asimetría positiva (skewness mayor a 0) y presentan una forma leptocurtica (*“la giba de la curva es muy alta”*), kurtosis mayor a 3; además, vemos que el CV es mayor a 33%. Dados estos resultados, se prefiere utilizar la mediana y el DIC; encontrando de esta manera una mediana de aquellos pacientes que utilizan prótesis total de 1.15×10^3 UFC a diferencia de los que presentan prótesis parcial removible metálica y grupo control, 7.5 UFC.

En la tabla 2 comprobamos con la prueba de Shapiro Wilk si los grupos presentan distribución normal o no (uno de los supuestos para determinar si las pruebas estadísticas que se utilizan serán paramétricas o no paramétricas) concluyendo que ninguno de los grupos tiene distribución Normal (en este caso deberíamos usar pruebas no paramétricas) de esta manera podemos realizar la comparación de las unidades formadoras de colonias (UFC) de los pacientes portadores y no portadores de prótesis removible; por ello se puede apreciar en la tabla 3 que al aplicar la

prueba de Kruskal Wallis (prueba no paramétrica) nos menciona que existen diferencias significativas en la cantidad de UFC que se forma en cada grupo. Para ello, se procede a utilizar la prueba U Mann Whitney (compara en pares de grupos), la cual nos da como resultado que existen diferencias estadísticamente significativas al comparar los pacientes portadores de prótesis total con aquellos portadores de prótesis removible metálica (0.0071) y con los pacientes del grupo control, no portadores de prótesis (0.00001); a diferencia de la comparación de pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica con el grupo control (0.4694).

Al determinar la cantidad de cepas fúngicas presentes en las muestras de saliva de pacientes portadores de prótesis removible metálica y no portadores de prótesis se encontró los siguientes tipos de cepa respectivamente; *Candida albicans* (63.74 %)(19.78 %), *Candida no albicans* (2.20 %)(2.20 %), *Candida glabrata* (8.78 %) (0) y *Candida guilliermondi* (3.30 %)(0) (tabla 7).

En la tabla 8 se puede observar la cantidad de cepas fúngicas teniendo como referencia los porcentajes según cada tipo de levadura; en el caso de las prótesis totales se encontró *Candida albicans* (56.34 %), *Candida no albicans* (1.41 %), *Candida glabrata* (45.63 %) y *Candida guilliermondi* (4.23 %) y en los pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica se observó *Candida albicans* (25.35 %), *Candida no albicans* (1.41 %), *Candida glabrata* (5.63 %) y *Candida guilliermondi* (0 %).

Se evaluó las sustancias experimentales (figura 33,34, 35 anexo 14); gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) y agua destilada, y se observó que los halos de inhibición de los

pacientes portadores de prótesis completa al ser expuestos al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, control positivo y negativo presentan un promedio de 19.82 mm \pm 4.33, 6.14 mm \pm 9.49 y 0 mm respectivamente. Aquellos pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica obtuvieron los siguientes resultados; gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” 20.79mm \pm 6.08, miconazol 20 mg/g 11.75 mm \pm 12.93 y agua destilada 0 mm. A diferencia de los valores obtenidos por los pacientes no portadores donde al aplicar el gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” se obtuvo 20.06 mm \pm 2.55, miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) 7.82 mm \pm 8.74 mm y agua destilada 0 mm (tabla 9).

Luego de determinar la normalidad mediante la prueba de Shapiro Wilk se halló que al no existir distribución normal ($p < 0.05$) se realizó pruebas no paramétricas (wilcoxon) (tabla 10), donde se observó que si existen diferencias estadísticamente significativo entre los grupos de evaluación y los pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis, donde el grupo experimental con el gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” es estadísticamente mas eficiente en comparación con los grupos del control positivo y negativo (tabla 11).

Los resultados de la efectividad antifúngica también fueron evaluados según cada tipo de hongo aislado de pacientes portadores de prótesis total, parcial metálica o aquellos que no eran portadores; en la tabla 12 se puede observar la clasificación según grupo de pacientes, de los cuales se identificaron las cepas fúngicas mas frecuentes a las cuales se les aplicó las sustancias experimentales entre ellas (gel

de inca muña, miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) como control positivo y agua destilada como control negativo).

En aquellos pacientes portadores de prótesis total se encontró una diversidad de especies de *Candida*, los cuales al evaluar los promedios de halo de inhibición como se muestra en la figuras 33, 34 y 35, anexo 15, expuestas al gel de Inca Muña se encontró lo siguiente; *Candida albicans* 19.23 mm \pm 4.22, *Candida glabrata* 25.50 mm \pm 2,76, *Candida guilliermondi* 20.50 mm \pm 0.79, *Candida no albicans* 19 mm \pm 0.70. A la exposición con el control positivo fue *Candida albicans* 5.52 mm \pm 8.63, *Candida glabrata* 18.50 mm \pm 11,69, *Candida guilliermondi* 0 mm , *Candida no albicans* 0mm, en cambio con el control negativo en todas las cepas no se evidencia efectividad no mostrando halos de inhibición. (tabla 12)

Los cepas de los pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica expuestas al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” tuvieron los siguientes resultados; *Candida albicans* 18.36 mm \pm 3.64, *Candida glabrata* 30.14 mm \pm 4.84, *Candida no albicans* 27 mm \pm 0.17. A la exposición con el control positivo fue *Candida albicans* 8.19 mm \pm 10.21, *Candida glabrata* 24 mm \pm 14.55, *Candida no albicans* 27 mm \pm 0.30, en cambio con el control negativo en todas las cepas no se evidencia efectividad no mostrando halos de inhibición. (tabla 13)

Las levaduras de los pacientes no portadores de prótesis expuestas al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” tuvieron los siguientes resultados; *Candida albicans* 20.17 mm \pm 2.47, *Candida no albicans* 19 mm \pm 3.31. A la exposición con el control positivo fue *Candida albicans* 7.74 mm \pm 8.60, *Candida no albicans*

8.50mm±9.31, en cambio con el control negativo en todas las cepas no se evidencia efectividad no mostrando halos de inhibición. (tabla 13)

Al comparar el efecto antifúngico del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) y agua destilada entre cepas fúngicas encontradas en pacientes portadores de prótesis total se encontró que la placas de *Candida albicans* tiene diferencias significativas al ser comparada con *Candida glabrata* con un $p < 0.0001$ cuando ambas fueron expuestas al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”; así también la cepa de *Candida albicans*, *Candida guilliermondi* y *Candida no albicans* expuestas al control positivo y comparadas con cepas de *Candida albicans* esta última expuesta al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” se mostraron también con un $p < 0.0001$, existiendo diferencias estadísticamente significativas. (tabla 14)

Las cepas de *Candida glabrata* expuestas a gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” y comparadas con cepas de *Candida guilliermondi* mostraron diferencias estadística significativa con un $p < 0.0001$. El miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) y agua destilada en las cepas de *Candida albicans*, *Candida guilliermondi* y *Candida no albicans* mostró diferencias significativas ($p < 0.0001$) al compararse con los halos de inhición de cepas de *Candida glabrata* expuestas a gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”. (tabla 14)

Se mostró una diferencia estadística en las cepas de *Candida guilliermondi* expuestas al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” en comparación con

cepas de *Candida albicans*, *Candida guilliermondi* y *Candida no albicans* expuestos al miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) ($p < 0.0001$) y con cepas de *Candida no albicans* expuesta a *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” ($p = 0.0155$). La *Candida no albicans* a la cual se le aplicó el gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” mostró un $p < 0.0001$ comparándolo con *Candida guilliermondi* y *Candida no albicans* expuesto, estos dos últimos a miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK). (tabla 14)

Asimismo, se realizó la comparación entre diferentes cepas, ambas expuestas al control positivo; y se obtuvo que la *Candida albicans* comparado con *Candida glabrata* tuvo diferencias significativas con un $p < 0.0001$ y la *Candida glabrata* comparado con *Candida guilliermondi* obtuvo un $p = 0.0002$ y con *Candida no albicans* un $p = 0,0194$. (tabla 14)

También se hizo la comparación con las cepas de aquellos pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica y se obtuvo los siguientes resultados. Al comparar el gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” aplicado tanto al *Candida albicans* como a la *Candida glabrata* mostró un $p < 0.0001$, asimismo el miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) expuesto a *Candida albicans* y comparado con cepa de *C.albicans* expuesto a la *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” presentaron diferencias significativas ($p < 0.0001$). Las cepas de *Candida glabrata* expuesto al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” y comparado con cepas de *Candida albicans* expuestos a miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) mostró un $p < 0.0001$, similar

resultados se obtuvo al comparar el gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” en *Candida no albicans* con la cepa *Candida albicans* a la cual se le aplicó el control positivo ($p= 0.0025$) (tabla 15)

Al comparar el miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) en cepas de *Candida albicans* con *Candida glabrata* mostró que tenía un $p< 0.0001$, a diferencia de *Candida glabrata* con *Candida no albicans*, ambos expuestos al miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) donde el $p= 0.734$, no encontrándose diferencias significativas. (tabla 15)

En los pacientes no portadores de prótesis no se encontró diferencias estadísticamente significativas en el grupo de *Candida albicans* y *Candida no albicans* expuesta al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” $p= 0.2914$, la cepa de *Candida albicans* y *Candida no albicans* expuesta al miconazol 20 mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) obtuvo una diferencia significativa al ser comparado con *Candida albicans* al cual se le aplicó el gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” ($p< 0.0001$) ; resultados similares se dio en *Candida albicans* ($p=0,0025$) y *Candida no albicans* ($p=0,0264$) expuestos al miconazol (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) al compararlos con *Candida no albicans*, a este último se le aplicó gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”; cuando se evaluó la *Candida albicans* y *Candida no albicans* con miconazol (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) no se encontró diferencias siendo un $p=0,8392$. (tabla 15)

Tabla 1

Unidades formadoras de colonias (UFC) de los pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.

Grupo	Promedio UFC	D.E	Mediana	DIC	CV	skewness	Curtosis
Prótesis total	6.73×10^3	16.98×10^3	1.15×10^3	9.54×10^2	0.80	3.32	13.33
Prótesis parcial	52.89×10^3	16.15×10^4	7.5	3.59×10^2	0.84	2.67	8.13
No portadores	1.31×10^2	2.58×10^2	7.5	56.25	0.74	1.99	5.36
Total	19.91×10^3	95.14×10^3	100	5.09×10^2	0.79	5.12	27.44

Tabla 2

Supuesto de Normalidad de unidades formadoras de colonias (UFC) de pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.

grupo	Distribución z	Prob>z
Protesis total	5.229	<0.0001
Protesis parcial	5.414	<0.0001
No portadores	4.543	<0.0001
normalidad $p > 0.05$		

Tabla 3

Comparación de las unidades formadoras de colonias (UFC) de los pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.

grupo		valor de p
Protesis total	Protesis parcial	0.0071*
	No portadores	0.00001*
Protesis parcial	No portadores	0.4694*
*Prueba de U Mann Whitney		significancia $p < 0.05$
Test Kruskal Wallis		$p = 0.0001$

Tabla 4

Identificación de cepas fúngicas de pacientes no portadores de prótesis

CEPA	Tubo germinativo	Clamidospora	SACAROSA	GALACTOSA	LACTOSA	MALTOSA	RAFINOSA	GLUCOSA	N° DE CEPAS
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	18
<i>Candida no albicans</i>	-	-	+	-	-	-	-	+	2

Tabla 5

Identificación de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis total

CEPA	Tubo germinativo	Clamidospora	SACAROSA	GALACTOSA	LACTOSA	MALTO SA	RAFINOSA	GLUCOSA	Nº DE CEPAS
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	40
<i>Candida glabrata</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	4
<i>C. guilliermondii</i>	-	-	+	+	-	+	+	+	3
<i>Candida non albicans</i>	-	-	+	-	-	-	-	+	1

Tabla 6

Identificación de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica

[illegible]

Tabla 7

Frecuencia de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis.

Tipo de Levadura	Cepas de pacientes portadores de Prótesis removible n (%)	Cepas de Pacientes No portadores de Prótesis n (%)	Total n (%)
<i>Candida albicans</i>	58 (63.74)	18 (19.78)	76 (83.52)
<i>Candida no albicans</i>	2 (2.20)	2 (2.20)	4 (4.40)
<i>Candida glabrata</i>	8 (8.78)	0 (0.00)	8 (8.79)
<i>Candida guilliermondi</i>	3 (3.30)	0 (0.00)	3 (3.30)
Total	71 (78.02)	20 (21.98)	91 (100.00)

Tabla 8

Frecuencia de cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis removible según el tipo de prótesis removible.

Tipo de Levadura	Prótesis total n (%)	Prótesis parcial n (%)	Total n (%)
<i>Candida albicans</i>	40 (56.34)	18 (25.35)	58 (81.69)
<i>Candida no albicans</i>	1 (1.41)	1 (1.41)	2 (2.82)
<i>Candida glabrata</i>	4 (45.63)	4 (5.63)	8 (11.27)
<i>Candida guilliermondi</i>	3 (4.23)	0 (0.00)	3 (4.23)
Total	48 (67.61)	23 (32.39)	71 (100.00)

Tabla 9

Actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cepas fúngicas aisladas de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y no portadores de prótesis.

Grupo Pacientes	Gel antifúngico	Promedio (mm)	D.E.	CV	Mediana	DIC	Skewness	Curtosis
Prótesis total	Gel	19.82	4.33	0.22	19.75	2.04	0.59	3.54
	C+	6.14	9.49	0.80	0.00	6.50	1.18	3.02
	C-	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
Prótesis parcial	Gel	20.79	6.08	0.29	20.00	3.50	0.63	3.84
	C+	11.75	12.93	0.84	11.00	11.50	0.47	1.67
	C-	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
No portadores	Gel	20.06	2.55	0.13	19.93	1.84	0.32	2.75
	C+	7.82	8.74	0.90	4.17	7.67	0.51	1.99
	C-	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
Total	Gel	20.12	4.51	0.22	20.00	2.18	0.75	4.82
	C+	7.93	10.46	0.85	0.00	7.50	0.93	2.56
	C-	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.

Tabla 10

Supuesto de Normalidad de la actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cepas fúngicas aisladas de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y no portadores de prótesis.

Grupo Pacientes	Gel antifúngico	Distribución z	Prob>z
Prótesis total	Gel	1.505	0.06621
	C+	4.081	0.00002
	C-	.	.
Prótesis parcial	Gel	0.946	0.17199
	C+	2.468	0.0068
	C-	.	.
No portadores	Gel	-0.902	0.8165
	C+	2.172	0.01494
	C-	.	.
Prueba Shapiro Wilk		normalidad p>0.05	

Tabla 11

Comparación de la actividad antifúngica in vitro del de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” con el Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica y pacientes no portadores de prótesis.

Grupo Pacientes	Gel antifúngico	Gel antifúngico	valor de p
Prótesis total	Gel	C+	<0.0001
		C-	<0.0001
	C+	C-	0.0001
Prótesis parcial	Gel	C+	0.002
		C-	<0.0001
	C+	C-	0.0007
No portadores	Gel	C+	0.0003
		C-	0.0001
	C+	C-	0.0019
Prueba de Wilcoxon			significancia p<0.05

Tabla 12

Actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cada tipo de cepas fúngicas aisladas de pacientes portadores de prótesis total.

Grupo Pacientes	Tipo de cepas	Gel antifúngico	N	Promedio (mm)	D.E.	CV	Mediana	DIC	Skewness	Curtosis
Prótesis total	<i>C. albicans</i>	Gel	120	19.23	4.22	0.22	19.10	2.13	0.80	4.27
	<i>C. glabrata</i>	Gel	12	25.50	2.76	0.11	26.70	1.70	-1.07	2.31
	<i>C. gilliermondi</i>	Gel	9	20.50	0.79	0.04	20.10	0.60	0.85	2.26
	<i>C. no albicans</i>	Gel	3	19.00	0.70	0.04	19.30	0.65	-0.64	1.50
	<i>C. albicans</i>	C+	120	5.52	8.63	1.56	0.00	6.40	1.26	3.38
	<i>C. glabrata</i>	C+	12	18.50	11.69	0.63	21.95	8.00	-0.84	2.15
	<i>C. gilliermondi</i>	C+	9	0	0	.	0	0	.	.
	<i>C. no albicans</i>	C+	3	0	0	.	0	0	.	.
	<i>C. albicans</i>	C-	40	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
	<i>C. glabrata</i>	C-	4	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
	<i>C. gilliermondi</i>	C-	3	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
	<i>C. no albicans</i>	C-	1	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.

Tabla 13

Actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) frente cada tipo de cepas fúngicas aisladas de pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica y no portadores de prótesis

Grupo Pacientes	Tipo de cepas	Gel antifúngico	N	Promedio (mm)	D.E.	CV	Mediana	DIC	Skewness	Curtosis
Prótesis parcial removible metálica	<i>C. albicans</i>	Gel	54	18.36	3.64	0.20	19.40	2.05	-1.09	4.52
	<i>C. glabrata</i>	Gel	12	30.14	4.84	0.16	30.00	4.68	-0.01	1.04
	<i>C. no albicans</i>	Gel	3	27.00	0.17	0.01	27.10	0.15	-0.71	1.50
	<i>C. albicans</i>	C+	54	8.19	10.21	1.25	0.00	7.40	0.82	2.46
	<i>C. glabrata</i>	C+	12	24.00	14.55	0.61	31.00	8.98	-1.12	2.31
	<i>C. no albicans</i>	C+	3	27.00	0.30	0.01	27.00	0.30	0.00	1.50
	<i>C. albicans</i>	C-	18	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
	<i>C. glabrata</i>	C-	4	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
	<i>C. no albicans</i>	C-	1	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
No portadores de prótesis	<i>C. albicans</i>	Gel	54	20.17	2.47	0.12	19.95	1.95	0.43	2.93
	<i>C. no albicans</i>	Gel	6	19.00	3.31	0.17	19.05	2.85	-0.03	1.07
	<i>C. albicans</i>	C+	54	7.74	8.60	1.11	4.10	7.40	0.57	2.12
	<i>C. no albicans</i>	C+	6	8.50	9.31	1.10	8.30	8.50	0.00	1.00
	<i>C. albicans</i>	C-	18	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
	<i>C. no albicans</i>	C-	2	0.00	0.00	.	0.00	0.00	.	.
	<i>C. albicans</i>	C-								

Tabla 14

Comparación de la actividad antifúngica in vitro del de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” con el Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) según el tipo de cepa fúngica aislada de pacientes portadores de prótesis total.

Grupo Pacientes	Gel antifúngico	Tipo de cepa	Gel antifúngico	Tipo de cepas	Diferencia de medias	valor de p
Prótesis total	Gel Inca muña	<i>C. albicans</i>	Gel	<i>C. glabrata</i>	-6.27	<0.0001
				<i>C. gillermonti</i>	-1.27	0.3706
				<i>C. no albicans</i>	0.23	0.9253
			C+	<i>C. albicans</i>	13.71	<0.0001
				<i>C. glabrata</i>	0.73	0.6486
				<i>C. gillermonti</i>	19.23	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	19.23	<0.0001
			C-	<i>C. albicans</i>	19.23	<0.0001
				<i>C. glabrata</i>	19.23	<0.0001
				<i>C. gillermonti</i>	19.23	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	19.23	<0.0001
		<i>C. glabrata</i>	Gel	<i>C. gillermonti</i>	5	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	6.5	0.0017
			C+	<i>C. albicans</i>	19.98	<0.0001
				<i>C. glabrata</i>	7	0.0559
				<i>C. gillermonti</i>	25.5	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	25.5	<0.0001
			C-	<i>C. albicans</i>	25.5	<0.0001
				<i>C. glabrata</i>	25.5	<0.0001
				<i>C. gillermonti</i>	25.5	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	25.5	<0.0001
		<i>C. gillermonti</i>	Gel	<i>C. no albicans</i>	1.5	0.0155
				<i>C. albicans</i>	14.98	<0.0001
			C+	<i>C. glabrata</i>	2	0.6166
				<i>C. gillermonti</i>	20.5	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	20.5	<0.0001
				<i>C. albicans</i>	20.5	<0.0001
			C-	<i>C. glabrata</i>	20.5	<0.0001
				<i>C. gillermonti</i>	20.5	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	20.5	<0.0001
				<i>C. albicans</i>	13.48	0.0081
		<i>C. no albicans</i>	C+	<i>C. glabrata</i>	0.5	0.9437
				<i>C. gillermonti</i>	19	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	19	<0.0001

C+	C-	<i>C. albicans</i>	19	<0.0001
		<i>C. glabrata</i>	19	<0.0001
		<i>C. gillermonti</i>	19	<0.0001
		<i>C. no albicans</i>	19	<0.0001
	C+	<i>C. glabrata</i>	-12.98	<0.0001
		<i>C. gillermonti</i>	5.52	0.0581
		<i>C. no albicans</i>	5.52	0.272
	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	5.52	0.0001
		<i>C. glabrata</i>	5.52	0.205
		<i>C. gillermonti</i>	5.52	0.272
		<i>C. no albicans</i>	5.52	<0.0001
	C+	<i>C. gillermonti</i>	18.5	0.0002
		<i>C. no albicans</i>	18.5	0.0194
	<i>C. glabrata</i>	<i>C. albicans</i>	18.5	<0.0001
		<i>C. glabrata</i>	18.5	0.008
		<i>C. gillermonti</i>	18.5	0.0194
		<i>C. no albicans</i>	18.5	<0.0001
	C+	<i>C. no albicans</i>	0	.
	<i>C. gillermonti</i>	<i>C. albicans</i>	0	.
		<i>C. glabrata</i>	0	.
		<i>C. gillermonti</i>	0	.
		<i>C. no albicans</i>	0	.
	<i>C. no albicans</i>	<i>C. albicans</i>	0	.
		<i>C. glabrata</i>	0	.
		<i>C. gillermonti</i>	0	.
		<i>C. no albicans</i>	0	.
C-	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	0	.
		<i>C. gillermonti</i>	0	.
		<i>C. no albicans</i>	0	.
	<i>C. glabrata</i>	<i>C. gillermonti</i>	0	.
		<i>C. no albicans</i>	0	.
	<i>C. gillermonti</i>	<i>C. no albicans</i>	0	.

Prueba t student

significancia p<0.05

Tabla 15

Comparación de la actividad antifúngica in vitro del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” con el Miconazol 20mg/g (C+) y el agua destilada (C-) según el tipo de cepa fúngica aislada de pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica y pacientes no portadores de prótesis.

Grupo Pacientes	Gel antifúngico	Tipo de cepa	Gel antifúngico	Tipo de cepas	Diferencia de medias	valor de p
Prótesis parcial removible metálica	Gel Inca muña	<i>C. albicans</i>	Gel	<i>C. glabrata</i>	-11.78	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	-8.61	0.0001
			C+	<i>C. albicans</i>	10.17	<0.0001
				<i>C. glabrata</i>	-5.64	0.0126
				<i>C. no albicans</i>	-8.64	0.0001
			C-	<i>C. albicans</i>	18.36	<0.0001
				<i>C. glabrata</i>	18.36	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	18.36	<0.0001
		<i>C. glabrata</i>	Gel	<i>C. no albicans</i>	3.14	0.2945
				<i>C. albicans</i>	21.95	<0.0001
			C+	<i>C. glabrata</i>	6.14	0.1793
				<i>C. no albicans</i>	3.14	0.2946
				<i>C. albicans</i>	30.14	<0.0001
			C-	<i>C. glabrata</i>	30.14	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	30.14	<0.0001
		<i>C. no albicans</i>	C+	<i>C. albicans</i>	18.81	0.0025
				<i>C. glabrata</i>	3	0.734
				<i>C. no albicans</i>	0	0.9999
			C-	<i>C. albicans</i>	27	<0.0001
				<i>C. glabrata</i>	27	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	27	<0.0001
	C+	<i>C. albicans</i>	C+	<i>C. glabrata</i>	-15.81	<0.0001
				<i>C. no albicans</i>	-18.81	0.0025
			C-	<i>C. albicans</i>	8.19	0.0012
				<i>C. glabrata</i>	8.19	0.1172
				<i>C. no albicans</i>	8.19	.
		<i>C. glabrata</i>	C+	<i>C. no albicans</i>	-3	0.734
			C-	<i>C. albicans</i>	24	<0.0001
				<i>C. glabrata</i>	24	0.0061
				<i>C. no albicans</i>	24	<0.0001

			<i>C. albicans</i>	27	<0.0001
			<i>C. glabrata</i>	27	<0.0001
			<i>C. no albicans</i>	27	<0.0001
No portadores de prótesis	C-	<i>C. no albicans</i>	C-		
		<i>C. albicans</i>	C-		
	Gel Inca muña	<i>C. albicans</i>	Gel	<i>C. no albicans</i>	1.17 0.2914
			C+	<i>C. albicans</i>	12.43 <0.0001
				<i>C. no albicans</i>	11.67 <0.0001
		<i>C. no albicans</i>	C-	<i>C. albicans</i>	20.17 <0.0001
				<i>C. no albicans</i>	20.17 <0.0001
			C+	<i>C. albicans</i>	11.26 0.0025
	C+	<i>C. albicans</i>		<i>C. no albicans</i>	10.5 0.0264
			C-	<i>C. albicans</i>	19 <0.0001
				<i>C. no albicans</i>	19 <0.0001
		<i>C. no albicans</i>	C+	<i>C. no albicans</i>	-0.76 0.8392
			C-	<i>C. albicans</i>	7.74 0.0003
				<i>C. no albicans</i>	7.74 0.2125
	C-	<i>C. albicans</i>	C-	<i>C. albicans</i>	8.5 0.0005
				<i>C. no albicans</i>	8.5 0.2665
		<i>C. albicans</i>	C-	<i>C. no albicans</i>	0 .

Prueba t student

significancia p<0.05

CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN

En el presente estudio de tipo experimental in vitro se buscó evaluar el efecto antifúngico del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” frente a cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis removible.

Hoy en día existen patologías las cuales son originadas por la presencia de hongos, así como la mala higiene bucal, una de estas es conocida como estomatitis subprotésica con una prevalencia de 11% a 60% en pacientes portadores de prótesis total ¹⁶ y de un 1.1% a 36.7% en pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica³⁵; el uso indiscriminado de agentes antifúngicos puede generar resistencia de las cepas de *Candida*. La medicina natural es conocido como agente fitoterapéutico, esta ha mostrado efectividad como antibacteriano, antifúngico y actividad antiviral. Existen formulaciones herbales las cuales tienen agentes antifúngicos y pueden ser usado de manera segura.

La fitoterapia es una alternativa de tratamiento que ha demostrado ser muy útil para diversas patologías donde se ha estudiado que las plantas constituyen un reservorio de metabolitos secundarios biológicamente activos en el control de diversas enfermedades.⁹ Aquellas plantas que contienen componentes fenólicos hacen posible la potente actividad antifúngica.⁸

Mohamman A⁸, et al realizó un ensayo clínico controlado donde evaluó el efecto antifúngico de *Satureja hortensis*; gel al 1%, frente pacientes que presentaban estomatitis subprotésica, a los cuales les aplicó el gel por dos semanas obteniendo resultado positivos en cuanto a la disminución de

colonias de *Candida* y eritemas en el paladar; estos resultados se deben a que el aceite esencial de ***Satureja spp*** presenta compuestos químicos como Carvacrol, γ terpineno y p- cymene, los cuales también los podemos encontrar en la especie *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, toda vez que ambas plantas pertenecen al género *Satureja spp*.

Los extractos de orégano (*Origanum vulgare*), tomillo (*Thymus vulgaris*), romero (*Rosmarinus officinalis*), cilandro (*Coriandrum sativum*), cebolla (*Allium cepa*), ajo (*Allium sativum*) y canela han demostrado tener propiedades antifúngicos, ya que presentan como compuesto mayoritario el eugenol, carvacrol y timol^{47,14}; estos dos últimos compuestos los encontramos en *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” en porcentajes de 0.6.

Los aceites esenciales del orégano y clavo han demostrado tener efecto antifúngico, por tener grupos fenoles al igual que la planta en estudio (*Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”), ya que en la elucidación de sus compuestos químicos se encuentra compuestos como carvacrol y linalol; el carvacrol en concentraciones de 0.033% inhibe el crecimiento de cepas *Candida spp* .^{3,14}

Los grupos fenoles, alcoholes presentes en la especie *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” como el carvacrol, linalol; han demostrado tener efecto antifúngico, esto se debe a la capacidad lipofílica, ya que puede inhibir a la *Candida albicans*, la formación de tubos germinativos y alterar la función y características de la membrana de dicha cepa.^{2,3}

El aceite esencial de hierba luisa posee características antibacteriana y antifúngica ya que contienen saponinas, taninos, antraquinonas, flavonoides, fenoles y alcaloides así como también terpenos, aldehídos alcoholes y esterres compuestos que están presentes en la *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”. Puga D⁴⁸, hace mención en su estudio a Ekpenyong el cual refiere que el linalool es el que provoca la reducción de tamaño de la célula fúngica, así como la germinación anómala del hongo, dicho alcohol también está presente en la especie *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” en concentraciones de 20.3%.

Los agentes antimicóticos obtenidos de plantas han demostrado tanto in vivo como in vitro ser efectivos; dentro de estos encontramos las siguientes plantas, *Melaleuca alternifolia* “árbol de té” presenta compuestos activos como terpinen-4-ol y 1,8-civeol en concentraciones de 29% al 45% y del 4,5% al 16,5%; el aceite del *Allium sativum* “ajo” presenta alicina y ajoeno, el *Eucalyptus globulus* a concentraciones de 54% y 95% presenta 1,8-cineol, *Thymus vulgaris* y *Thymus zygis* son fuentes de timol y carvacrol los cuales se encuentran de igual manera en la *Satureja brevicalyx* (Inca Muña) y es por eso que estos aceites esenciales tienen alto poder antifúngico.⁴⁹

Aceites esenciales constituidos por varios compuestos como β -Eudesmol, espatulenol e isocariofilene mostraron una significativa actividad antibacteriana y antifúngica⁹; asimismo el estudio realizado por Cano C en el cual consideró un diseño experimental in vitro donde evaluaba la capacidad antifúngica mediante el método de agar en difusión para *Candida* y dilución en tubo *Trychophytum*, ambas cepas fueron expuestas al aceite esencial de

hojas de *Minthostachys mollis*, el cual es un tipo de muña, se identificaron los terpenoides como pulegona, mentona, limoneno y mirceno los cuales mostraron la actividad contra *Candida albicans*, *T. mentagrophytes* y *Microsporun canis*; asimismo esta especie contiene principales monoterpenos que le dan el efecto antifúngico entre ellos encontramos la pulegona, mentona y limoneno, los cuales son compuestos similares a la planta en estudio de la presente investigación.¹⁰

Melaleuca alternifolia cuando se aplica tópicamente tiene muchos beneficios médicos; antifúngico, antibacterial, antiviral y antiséptico; su eficacia tópica se debe por su naturaleza lipofílica que permite su penetración en la piel, este contiene 48 componentes, primordialmente el terpineol el cual es el responsable de su efecto antifúngico y antibacterial; asimismo tiene compuestos como α terpineol, linalol, y α pineno que muestran actividad significativa con propiedades antifúngicas.³

La especie *Punica granatum* “granada” es originaria de Asia menor dentro de sus componentes encontramos los taninos y los alcaloides; se ha estudiado clínicamente a esta planta comprobando su efecto antifúngico similar al miconazol en pacientes con estomatitis subprotésica; disminuyendo la presencia de *Candida albicans*, lo cual es comparable con el presente estudio ya que al evaluar los halos de inhibición de la *Satureja brevialyx* estos son muy similares con el control positivo (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK).⁵

Diversas plantas han demostrado tener efectividad antifúngica actuando de manera eficaz con diversos hongos del genero *Candida spp* y estas comparten grupos funcionales iguales a los de la planta en estudio, lo cual le atribuye su gran efecto.

La literatura hace referencia que los metabolitos secundarios; interviene el carácter lipofílico y hidrofílico de sus grupos funcionales y a la polaridad que poseen siendo mayor a menor en fenoles aldehidos, cetonas, alcoholes y éteres.¹⁰ Dicho mecanismo se atribuye a la actividad de los fenoles frente a estas levaduras se debe a la inhibición de la germinación de los conidios del hongo⁵⁰; asimismo se ha probado que los terpenos encontrados en los aceites esenciales tienen la capacidad de dañar las biomembranas, su cualidad lipofílica permite que haya interacción con las enzimas de la membrana interfiriendo los procesos vitales como la ósmosis, la síntesis de esteroides y fosfolípidos. Los alcoholes fenólicos (timol, carvacrol, eugenol) son los más fuertes inhibidores de los procesos enzimáticos, el 1-8 cineol es un compuesto el cual inhibe la respiración mitocondrial, la fosforilación y la síntesis de ADN, es por todo lo mencionado con anterioridad que se le atribuye la capacidad antifúngica de la *Satureja brevicalyx* "Inca Muña".⁵¹

El *Schinus molle* es una árbol que se encuentra en la región andina de Sudamérica, crece en los andes peruano a altitudes de hasta 3650 m.s.n.m, se dice que dentro de sus propiedades medicinales se considera antiinflamatorio, antirreumático, antidepresivo, antiviral, antiespasmódico y antifúngico; esta última propiedad se debe a que presenta grupos funcionales

donde el limoneno le atribuye estos beneficios, mencionado compuesto lo encontramos en 0.7% en *Satureja brevicalyx* Epling "Inca Muña".⁷

Luego de la evaluación de los resultados se puede decir que aquellos pacientes portadores de prótesis total presentan mayor frecuencia de hongos en la superficie al compararlo con aquellos portadores de prótesis parcial removible metálica; estos resultados se deben a la resina acrílica que tiene en mayor proporción en las prótesis de los pacientes edéntulos totales.³⁵

La patología que se presenta en pacientes portadores de prótesis y en presencia de *Candida spp* es la estomatitis subprotésica la cual se ha estudiado una mayor prevalencia en el maxila superior y de tipo I y III, esto se debe a la cobertura total del paladar.³⁵

CONCLUSIONES

1. La especie *Satureja brevicalyx* Epling “ Inca Muña” tiene efecto antifúngico frente a cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guillermonti*, *Candida no albicans*.
2. Existen altas cantidades de unidades formadoras de colonias (UFC) de los pacientes portadores de prótesis removible y no portadores de prótesis, encontrando promedios mínimos de 131.25 y máximos de 52 885.5.
3. Existen diferencias significativas en la cantidad de UFC entre los grupos de pacientes portadores de prótesis removible y aquellos que no usan prótesis, siendo mayor el grupo de prótesis total en comparación con aquellos portadores de Prótesis parcial removible metálica y grupo no portador de prótesis.
4. Se identificó las siguientes cepas fúngicas:
 Pacientes no portadores de prótesis: *Candida albicans* (n= 18 cepas) y *Candida no albicans* (n= 2 cepas)
 Pacientes portadores de protésis completa: *Candida albicans* (n= 40 cepas), *Candida glabrata* (n= 4), *Candida guillermonti* (n= 3) y *Candida no albicans* (n= 1 cepas)
 Pacientes portadores de prótesis parcial removible metálica: *Candida albicans* (n= 18 cepas), *Candida glabrata* (n= 4)) y *Candida no albicans* (n= 1 cepas)
5. Se encontró un mayor frecuencia de levaduras en pacientes portadores de prótesis removible metálica (78.02%) en comparación con aquellos pacientes no portadores de prótesis (21.98%).

6. Se encontró una mayor frecuencia de *Candida albicans* y *Candida glabrata* en pacientes con prótesis total y prótesis parcial removible metálica (56.34%) (45.63%) y (25.35%)(5.63%) respectivamente..
7. Se obtuvo como resultados que en cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis total, prótesis parcial removible metálica o no portadores de prótesis el gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” tuvo un promedio de efectividad (20.12mm), el control positivo, miconazol 20mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK) (7.93%).
8. Se encontró que al hacer las comparaciones entre grupos experimentales y el tipo de prótesis si existía diferencia significativa siendo el gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” más efectivo.
9. En los grupos de pacientes portadores de prótesis total y prótesis parcial removible metálica se obtuvo halos de inhibición en todas las cepas fúngicas al ser expuesta al gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”, siendo mayor el halo frente a *Candida glabrata* (25.50mm / 30.14mm), seguido por *Candida guilliermondii* (20.50mm) en prótesis total y *Candida no albicans* (27mm) en pacientes con prótesis parcial removible metálica, a diferencia de aquellos no portadores donde los mayores halos se vieron en *Candida albicans* (20.17mm).
10. Al comparar entre grupos se observó que las cepas en estudio al aplicarles el gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña” mostraron efecto antifúngico al ser comparados con el miconazol 20mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK); asimismo se observó estos resultados al compararlo entre cepas fúngicas.

RECOMENDACIONES

Los hallazgos de este estudio constituyen un aporte al conocimiento científico en el uso de plantas medicinales de aplicación odontológica y permitirán que se ensaye su uso antifúngico en productos utilizados para la salud oral.

Se sugiere elaborar otras presentaciones farmacéuticas como colutorios, pastas dentrificas , etc que contengan dentro de sus componentes el aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling “inca muña” y se realice ensayos in vitro comprobando su efectividad frente a diversos patógenos de la cavidad bucal.

Se recomienda continuar este estudio realizando ensayos clínicos donde se evalúen in vivo la efectividad antifúngica.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Liébana J. Microbiología oral. 2ª ed. Madrid: Mc Graw-Hill; 2002: 542-600.
2. Carhuapoma Yance M. Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling “Urq muña” [tesis doctoral]. Lima: UNMSM; 2007.
3. Sharma S, Hegde V. Comparative evaluation of antifungal activity of Melaleuca oil and fluconazole when incorporated in tissue conditioner: An in vitro study. J prosthodont. 2014; 23: 367-73.
4. De Almeida L, Cavalcanti Y, De Castro R, Lima E. Atividade antifúngica e alterações morfológicas induzida pelo óleo essencial de *Cinnamomum cassia* frente a cepas de *Candida albicans* isoladas de pacientes VIH positivos. Clin Integr Joao Pessoa. 2012; 12(3): 393-98.
5. Bustillos L. Elaboración de un gel de *Punica granatum* para el tratamiento de pacientes con stomatitis protésica. Acta bioclínica. 2012; 2(4): 44-52.
6. Bakhshi M, Taheri J, Basir S, Tanik A, Pahlevan R. Comparison of therapeutic effect of aqueous extract of garlic and nystatin mouthwash on denture stomatitis. Gerodontology. 2012; 29: 680-84.
7. Saravia N, Guillinta G. Actividad antifúngica del extracto de etanol *Schinu molle* y el fluconazole sobre *Candida albicans*. Kiru. 2012; 9 (1): 39-41
8. Mohamman A, Davoodi N, Ebadian B, Asiani A, Ghanadi A. Clinical evaluation of the essential oil of “*Satureja hortensis*” for the treatment of denture stomatitis. Dent Res J. 2012; 9 (2): 198-202.

9. Palacios Z, Delgado G, Moreno M, Kato M, Rojas C. Actividad antifúngica in vitro de extractos crudos de *Piper tuberculatum*. Rev Peru Biol. 2009; 16(2): 209-14.
10. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Mintostachys mollis* (muña). Rev peru Med Exp Publica. 2008; 25 (3): 298-301.
11. Muñoz A, Castañeda M, Blanco K, Cárdenas C, Reyes J, Kouznetsov Stashenko E. Composición y capacidad antioxidante de especies aromáticas y medicinales con alto contenido de timol y carvacrol. Scientia et Technica. 2007;33: 125-8
12. Teixeira M, Leme E, Delarmelina C, Almeida A, Mara G, Sartoratto A. Activity of essential oils from brazilian medicinal planta on *Escherichia coli*. J Ethnopharmacol. 2007;111: 197-201
13. Mesa A, Montiel J, Martínez C, Zapata B, Pino N, Bueno J, Stashenko E. Actividad in vitro anti-candida y anti-aspergillus de aceites esenciales de plants de la familia Piperaceae. Scientia et Thecnica. 2007; 33:247-249.
14. Chami N, Bennis S, Chami F, Aboussekra A, Remmal A. Study of anticandidal activity of carvacrol and eugenol *in vitro* and *in vivo*. Oral Microbiol Inmunol. 2005; 20: 106-111.
15. Panizo M, Reviákina V. *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. Rev Soc Ven Microbiol. 2011; 21(2): 38-45
16. Moosazadeh M, Akbari M, Tabrizi R, Golkari A, Banakar M, Sekhavati E, Habibollah S, Bagheri K. Dentura stomatitis and *Candida albicans* in

- Iranian population: A systemtic review and metaanalysis. J Dent Shiraz Univ Med Sci. 2016; 16(3): 283-92.
- 17.Radnai M, Whiley R, Friel T, Wright P. Effect of antifungal gels incorporated into tissue conditioning material on the growrh of *Candida albicans*. Gerodontology. 2010; 27: 292-96.
 - 18.De Vasconcelos L, Vasconcelos L, Ghersel E, Veloso D, Cunha P. Denture hygiene: importance in denture stomatitis control. Rev Gaúcha Odontol. 2013; 61(2): 255-61.
 - 19.Davi G, Noborikawa E, Silva C, Ricardo F, Andrade M. Detection of single and mixed colonization of *Candida* species in patients with denture stomatitis. Braz J Oral Sci. 2001; 10 (3): 184-88.
 - 20.Guilarte C, Pardi G, De Stéfano A, Pacheco A, Dinatale E. Casuística de las micosis de la cavidad bucal, reportadas en el laboratorio de la cátedra de Microbiología, Facultad de Odontología, U.C.V. Acta odontol venez. 2005; 43(1) : 112-18 .
 - 21.Anez E, Rojas-Morales T, Calleja JL *et al*. Candidiasis Bucal: Una revisión sistemática de las pruebas de laboratorio. Acta odontol venez. 2009; 47(3):16-8.
 22. Vasconez G. Efecto antifúngico “in vitro” de aceite esencial y extracto alcohólico de *Rosmarinus officinalis* “Romero” sobre *Candida albicans* cepa ATCC 10231. [tesis bachiller]. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo; 2016.
 - 23.Pardi G, Cardozo El. Algunas consideraciones sobre *Candida Albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. Acta odontol venez. 2002: 40(1): 9-17.

24. Liébana J, Castillo A, Álvarez M. Enfermedades periodontales: consideraciones microbiológicas. *Med Oral Patol Oral Cir Buca*. 2004; 9 suppl: 75-91.
25. Aguirre J. Candidiasis Orales. *Rev Iberoam Micol*. 2002; 19: 17-21.
26. Ribeiro E, Scroferneker M, Carvalhaes M. Cepas gigantes de *Candida albicans* y su potencial de expresión/ fenotípica en niños portadores del Síndrome de Down. *Acta Odontol Venez*. 2006; 44(1): 47-50.
27. Yañez X, Lugo L, Parada D. Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, variedad valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia) Bistua. 2007; 5(1): 3-8.
28. Pardi G, Cardozo El, Perrone M, Salazar E. Detección de especies de *Candida* en pacientes con Estomatitis Sub-Protésica. *Acta Odontol Venez*. 2001; 39(3): 32-44.
29. Moran E, Ferreiro A. La Candidiasis como manifestación bucal en el Sida. *Rev Cubana Estomatol*. 2001; 38(1):25-32.
30. Díaz Ledesma K. Determinación de la actividad antibacteriana “in vitro” de *Minthostachys mollis* [tesis bachiller]. Lima:UNMSM; 2005.
31. Cairo MA. Aceite esencial a partir de la corteza del limón (*Citrus limonium*). 2 ed. Argentina: Cid Editor; 2009.
32. Gendreau L, Loewy G. Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont*. 2011; 20: 251-60.
33. Emami E, Kabawat M, Rompre P, Feine J. Linking evidence to treatment for denture stomatitis: A meta-analysis of randomized controlled trial. *J Dent*. 2014; 41:99-106.

34. Lazarte J. Estomatitis subprotésica. *Acta Odontol Venez.* 2001; 39(3): 9-17.
35. Emami E, Taraf H, De Grandmont P, Gauthier G, De Koninck L, Lamarche C, De Souza R. The association of denture stomatitis and partial removable dental prostheses: A systematic review. *Int J Prosthodont.* 2012; 25: 113-19.
36. De Castro R, Lima E. Screening da atividade antifúngica de óleo essenciais sobre cepas de *Candida*. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr Joao Pessoa.* 2011; 11(3): 341-45.
37. Pemberton M, Oliver R, Theaker E. Miconazol oral gel and drug interactions. *Br Dent J.* 2004; 196 (9): 529-31.
38. Rindum J, Holmstrup P, Pedersen M, Rassing M, Stoltze K. Miconazole chewing gum for treatment of chronic oral candidosis. *Scan J Dent Res.* 1993; 101:386-90.
39. Cardozo E, Pardi G, Perrone M, Salazar E. Estudio de la eficacia del miconazole tópico (daktarin jalea oral) en pacientes con stomatitis subprotésica inducida por *Candida*. *Acta Odontol Venez.* 2001; 39(3): 45-53.
40. Santana K, Rey Y, Rodriguez E, Silva M, Rodriguez A. Aplicación de la medicina tradicional y natural en las urgencia de prótesis estomatológicas. *Rev Arch Med Camaguey.* 2015; 19(3): 297-306.
41. Dagli N, Dagli R. Possible use of essential oil in dentistry. *J Int Oral Health.* 2014; 6(3): 1-2.
42. Gros E. Pomilio A. Introducción al estudio de productos naturales. Washington: Organización de los estados americanos; 1985.

43. Martínez J, Sulbarán B, Ojeda G, Ferrer A, Nava R. Actividad antibacteriana del aceite esencial de mandarina. *Rev Fac Agron.* 2003; 20(4): 502-12.
44. Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega ediciones; 2003.
45. Chumacero A, Iparraguirre D, Riofrío O, Salas E. Género *Satureja* (Lamiaceae) en la etnomedicina andina. [tesis bachiller]. Lima: UNMSM; 2003.
46. Carhuapoma YM. Plantas medicinales aromáticas nativas de la provincia de Huamanga y sus perspectivas económicas. [tesis bachiller]. Ayacucho: UNSCH; 2002.
47. Silva B, Ortega L, González G, Olivas I, Ayala J. Protección antifúngica y enriquecimiento antioxidante de fresa con ceite esencial de canela. *Rev Fitotec Mex.* 2013; 36(3): 217-24.
48. Puga D. Actividad antigúngica: estudio microbiológico comparative entre ajoeno y el aceite esencial de hierba luisa al 100% sobre cepas de *Candida albicans*. [Tesis bachiller]. Ecuador: Universidad central de Ecuador; 2015.
49. Meza A, Bueno J, Betancur L. Productos naturales con actividad antimicótica. *Rev Esp Quimioterap.* 2004; 178(4): 325-31.
50. Rodríguez A, Troncoso R, Sanchez A, González D, Ruiz E, Zamora R. Efecto antifúngico de etractus fenólicos y de carotenoides de chiltepín (*Capsicum annum var, glabriusculum*) en *Alternaria altrnat* y *Fusarium oxysporum*. *Rev Argent Microbiol.* 2015; 47 (1): 72-7.

51. Montes R. Diversidad de compuestos químicos producidos por las plantas contra hongos fitopatógenos. *Rev Mex Micolog.* 2009; 29: 73-82.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1

RESOLUCIÓN DE APROBACIÓN DE PROYECTO DE TESIS



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Telf.: 619-7000 - Anexo 3402

Fax: - 3409

"Año del buen servicio al ciudadano"

RESOLUCIÓN DE DECANATO N° 0309-FO-D-2017

Lima, julio 13 de 2017

Visto el Expediente, con Registro de Mesa de Partes N° 03219-FO-2017 de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Odontología, en relación a solicitud de cambio de Título de Proyecto de Tesis de Doctorado.

CONSIDERANDO:

Que mediante Resolución de Decanato N° 0289-FO-D-2017 del 14 de julio de 2016, se aprueba el Proyecto de Tesis de la Maestría en Estomatología "EVALUACIÓN DE GEL FORMULADO CON ACEITE ESENCIAL DE SATUREJA BREVICALYX EPLING "INCA MUÑA" FRENTE A CEPAS FÚNGICAS DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS 2016", a ser ejecutado por la Magister Diana Esmeralda Castillo Andamayo.

Que mediante Oficio N° 0701-FO-UPG-17 del 12 de julio de 2017, el Director (e) de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Odontología, Dr. Gilmer Torres Ramos, remite el Dictamen N° 084-FO-UPG-2017, que modifica el título de la Tesis "EVALUACIÓN DE GEL FORMULADO CON ACEITE ESENCIAL DE SATUREJA BREVICALYX EPLING "INCA MUÑA" FRENTE A CEPAS FÚNGICAS DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS 2016", por el siguiente "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL GEL DE Satureja brevicalyx Epling "INCA MUÑA" FRENTE A Candida spp. DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS".

Estando a las atribuciones conferidas a la Señora Decana por la Ley Universitaria N° 30220;

SE RESUELVE:

- 1° Modificar el Título del Proyecto de Tesis de Doctorado en Estomatología de la Magister DIANA ESMERALDA CASTILLO ANDAMAYO, de acuerdo al siguiente detalle:

Dice:

"EVALUACIÓN DE GEL FORMULADO CON ACEITE ESENCIAL DE SATUREJA BREVICALYX EPLING "INCA MUÑA" FRENTE A CEPAS FÚNGICAS DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS 2016".

Debe decir:

"EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL GEL DE Satureja brevicalyx Epling "INCA MUÑA" FRENTE A Candida spp. DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS".

2° Remitir la presente Resolución de Decanato a la Unidad de Posgrado de la Facultad de Odontología, para conocimiento.

Regístrese, comuníquese y archívese



ANEXO 2

ACTA DE EVALUACIÓN ÉTICA



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA
COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN
"Decenio de las personas con discapacidad en el Perú"
"Año de la consolidación del Mar de Grau"



ACTA N°. 0270

CÓDIGO DE PROYECTO: N°. 0351

ACTA DE EVALUACIÓN ÉTICA

En Lima, a los veinte cuatro días del mes de mayo de 2016, se realizó la **revisión ética expeditiva** de las recomendaciones Metodológicas y Éticas incorporadas como sugerencias de corrección al proyecto: **"Evaluación de gel formulado con aceite esencial de Satureja brevicalyx Epling "Inca Muña" frente a cepas fúngicas de pacientes portadores de Prótesis, 2016"** que la Mg., Diana Castillo Andamayo, ha cumplido satisfactoriamente.

RESULTADO: PROYECTO APROBADO

Lima, 24 de mayo de 2016


UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA
Ricardo Terukina
Dr. RICARDO TERUKINA
Presidente
del Comité de Ética de Investigación

Av. Grau 755 - Lima 1 - Apartado Postal 529 - Lima 100 - Perú Telf. (511) 3283237 - (511) 3283238 - (511) 3283232
(511) 3282749 - (511) 3283236 - Decanato Telefax: (511) 3283231 - Comité de Ética en Investigación 619-7000 Ax 4626
eticafm@yahoo.com Web: medicina.unmsm.edu.pe - E-mail de Biblioteca: bibmed@sanfer.unmsm.edu.pe
E-mail: decanofm@sanfer.unmsm.edu.pe

ANEXO 3

AUTORIZACIÓN DIRECCIÓN UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES-

FILIAL LIMA



UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

FILIAL - LIMA

DIRECCIÓN

"Año de la Consolidación del Mar de Grau"

Lima, 23 de junio de 2016

OFICIO N° 02662-2016-DFL-UPLA

Señorita:
Mg. Esp. Diana Esmeralda Castillo Andamayo
Presente -

Asunto: Solicito autorización y facilidades para el ingreso a la Clínica Dental


Ref. Carta de fecha 20.06.2016
 =====


De mi mayor consideración:

Tengo el agrado de dirigirme a usted para saludarla cordialmente, y asimismo en atención al documento de la referencia presentado con fecha 20.06.2016; **solicitando autorización y facilidades para el ingreso a la Clínica Dental Asistencial Docente de la Filial Lima**, debido a que realizará un Proyecto denominado "Evaluación de gel formulado con aceite esencial de Saturaje Brevicalyx Epling "Inca Muña" frente a cepas fúngicas de pacientes portadores de prótesis". Motivo por el cual se autoriza y brinda las facilidades para el ingreso a la Clínica Dental Asistencial Docente de la Filial Lima, para la recolección de datos a los pacientes que autoricen su participación y consentimiento.

Esperando su atención aprovecho la oportunidad para expresarle las muestras de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente,






Dr. Manuel Silva Infantes
 DIRECTOR
 UPLA Filial Lima

C.c.: Archivo
Adjunto: 00 Folios
M. S. 0009

Av. Cuba N° 579 Jesús María-Lima
Teléfono: 7198070/7198074

ANEXO 4

AUTORIZACIÓN LABORATORIO DE BACTERIALOGÍA DE LOS LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO (LID)



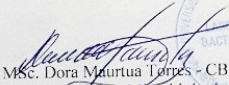
**UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA**

CONSTANCIA

La que suscribe hace constar que el Cirujano Dentista, Diana Esmeralda Castillo Andamayo, alumna del Doctorado de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha realizado los ensayos microbiológicos del tema de tesis titulado: "EVALUACIÓN DE GEL FORMULADO CON ACEITE ESENCIAL DE SATUREJA BREVICALYX EPLING " INCA MUÑA" FRENTE A CEPAS FÚNGICAS DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS 2016" durante los meses de Junio a Diciembre del presente año en el laboratorio de Bacteriología de los Laboratorios de Investigación y desarrollo (LID) de la Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri.

Se expide la presente constancia al interesado para los fines que crea conveniente.

Atentamente,-



MSc. Dora Maurtua Torres - CBP 776
Docente ~~Secc de Microbiología~~
Departamento de Ciencias Celulares y Moleculares
FCF - UPCH

Lima 20 de Diciembre de 2016

Av. Honorio Delgado 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres
Telef.: 319-0000 / 482-0252 / 482-1130
<http://www.upch.edu.pe>

ANEXO 5

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Institución: Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Investigador: Mg. Diana Castillo Andamayo

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Buenos días señor(a):

Mi nombre es Diana Castillo Andamayo, del Programa de Doctorado en Estomatología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, y me encuentro realizando un estudio titulado “Evaluación de la actividad antifúngico del gel de *Satureja brevicalyx* Epling “ Inca Muña” frente a *Candida spp.* de pacientes portadores de prótesis”; para determinar el efecto de gel formulado con aceite esencial de ***Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña”**.

Siendo usted una persona adulta, lo invito a participar voluntariamente en este estudio, para lo cual explicaré en qué consistiría su participación.

Deberá entregar en un frasco estéril una muestra de saliva si no es portadores de prótesis , y si es portador de prótesis removible, se les solicitará colocarla dentro de una bolsa hermética que contiene solución salina; se realizará un lavado de la prótesis friccionando sobre las superficies para el desprendimiento de placa. la cual permitirá realizar el estudio microbiológico de la misma; los datos obtenidos se mantendrán en total confidencialidad, y no se registrará el nombre del participante. Todos los datos sobre edad, sexo, grado de instrucción, tipo de prótesis utilizada se

usarán solamente para los fines de este estudio y en el Informe del estudio en ningún caso se mencionará su nombre. Su participación en este estudio no significa ningún riesgo ni incomodidad para Usted y no le demandará ningún tipo de gasto. Los resultados del estudio serán de utilidad para evaluar la efectividad de las sustancias en estudio. Si usted tiene alguna pregunta ahora o durante la encuesta yo puedo explicarle en mayor detalle cualquier duda sobre el estudio. Este estudio ha sido debidamente aprobado por la Facultad de Estomatología UNMSM.

Si Usted acepta participar en este estudio, sírvase indicarlo firmando:

Yo (nombre)....., DNI:....., acepto voluntariamente en participar en esta investigación:

Firma.....

Investigadora: Diana Castillo Andamayo

DNI: Firma:.....

ANEXO 6

LABORATORIO DE OPERACIONES Y PROCESOS UNITARIO (LOPU)



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



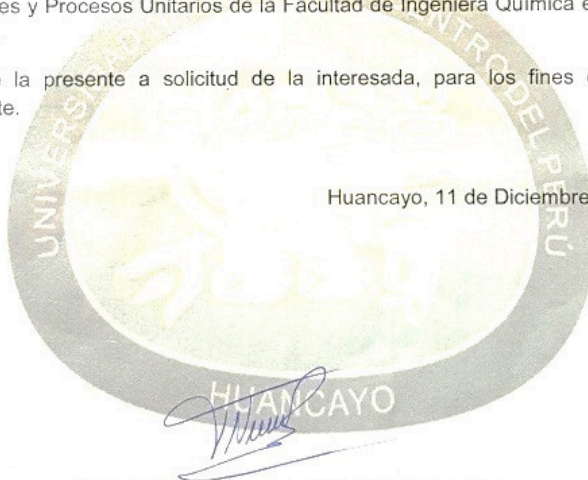
LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA — LABORATORIO
DE OPERACIONES Y PROCESOS UNITARIO (LOPU) DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ

CERTIFICA:

Que la **Mg. DIANA ESMERALDA CASTILLO ANDAMAYO**, ha realizado la extracción de aceite esencial de "INKA MUÑA" *satureja brevicalyx* Epling, haciendo uso del equipo de extracción por arrastre de vapor del Laboratorio de Operaciones y Procesos Unitarios de la Facultad de Ingeniería Química en el mes Diciembre.

Se expide la presente a solicitud de la interesada, para los fines que crea conveniente.

Huancayo, 11 de Diciembre del 2015



Ms. V. Santiago Navarro Rodríguez
CIP 55610
Laboratorio de operaciones y Procesos Unitarios

Av. Mariscal Castilla N° - 3909 - 4089 El Tambo Huancayo. Pabellón "C", Telf.: (064) 481164. Anexos: 3302
Web: <http://www.uncp.edu.pe/Facultades/Fia/home.htm> E-mail: f_quimica@uncp.edu.pe
Oficina de enlace - Lima: Calle Aldabas N° 337 - urbanización Las Gardenias "Surco" - Lima RPM: 234241 - cel.: 964-649009

Av. Mariscal Castilla N° 3909 - 4089 El Tambo - Huancayo. Pabellón "C", Telf.: (064) 481164. Anexo: 3302
web: <http://www.uncp.edu.pe/Facultades/Fiq/home.htm> E-mail: f_quimica@uncp.edu.pe
Oficina de Enlace - Lima: Calle Aldabas N° 337 - Urbanización Las Gardenias • Surco - Lima RPM: #234241 - Cel.: 964-649009

ANEXO 7

INSTITUTO BIOQUÍMICO DR.F.REMY SAC



INSTITUTO BIOQUÍMICO DR. F. REMY S.A.C.

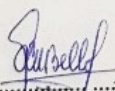
EL DIRECTOR TÉCNICO DEL INSTITUTO BIOQUÍMICO DR. F. REMY S.A.C. QUE SUSCRIBE DEJA,

CONSTANCIA

Que la Cirujano Dentista Diana Esmeralda Castillo Andamayo ha preparado bajo mi asesoramiento, en nuestras instalaciones, un gel dental a base del aceite de Inca Muña, el cual será empleado en el desarrollo de su tesis de doctorado titulada: EVALUACIÓN DE GEL FORMULADO CON ACEITE ESENCIAL DE SATUREJA BREVICALYX EPLING "INCA MUÑA" FRENTE A CEPAS FÚNGICAS DE PACIENTES PORTADORES DE PRÓTESIS 2016.

Se expide la presente para los fines que estime el interesado.

Lima, 01 de setiembre de 2016


 CARLOS ALEJANDRO BELL CORTEZ
 Doctor en Farmacia y Bioquímica
 C.Q.F.P. N° 1887


Km. 17,5 Carretera Central Chaclacayo Teléf.: 359-3374 Telefax: 359-3373
 R.U.C. 20101668887 - R.I. 15-13629-C - FOJAS 453 TOMO 58 - REGISTRO MERCANTIL DE LIMA

MAS DE 50 AÑOS A SU SERVICIO

DIPLOMA DE MEDALLA DE ORO, Esposizione internazionale delle Industrie e del Lavoro Torino, 1911
 MEDALLA DE ORO, MERITO POR SUS PRODUCTOS HIGIENICOS, Exposición Internacional de Higiene anexa al Congreso Médico Latino Americano, Lima 1914
 ACADEMICO CORRESPONDIENTE, MERITO, TITULO Y DESIGNACION. La Academia Nacional de Ciencias Exactas Físicas y Naturales de Lima, 1939
 MEDALLA DE ORO, MERITO POR SUS BODAS DE ORO PROFESIONALES, 120° aniversario de la independencia, Concejo Provincial de Lima, 1941
 GRAN DIPLOMA DE HONOR Y MEDALLA DE SELECCION, MERITO, APOORTE DEL DESARROLLO DE LA INDUSTRIA FARMACEUTICA Y PROGRESO CIENTIFICO
 1ra. Exposición de la Industria Farmacéutica Nacional, Lima 1943


ANEXO 8

TAXONOMÍA DE *Satureja brevicalyx* Epling



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA

MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Consolidación del Mar de Grau"

CONSTANCIA N° 111-USM-2016

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (tallo y hojas), recibida de la Srta. **Diana Esmeralda CASTILLO ANDAMAYO**; estudiante de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Post grado, ha sido estudiada y clasificada como: *Satureja brevicalyx* Epling., y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: LAMIALES

FAMILIA: LAMIACEAE

GENERO: *Satureja*


ESPECIE: *Satureja brevicalyx* Epling

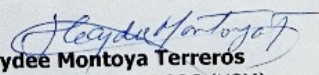
Nombre vulgar: "inca muña " "urqu muña"

Determinado por: Biólogo Mario Benavente P.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 30 de mayo de 2016




Dra. Haydee Montoya Terreros
 JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

DDB

ANEXO 9

COMPUESTOS QUÍMICOS DE *Satureja brevicalyx* "Inca muña"

CONSTITUYENTES	%	IR1	IR2	IR3	IR4
α -pineno	0.3	1035	-	938	217
β -pineno	0.2	1123	148	978	238
Sabineno	0.2	1133	156	972	235
β -mirceno	0.1	1169	182	-	-
Limoneno	0.7	1211	209	1027	263
1,8-cineol	0.6	1222	215	1027	263
γ -terpineno	0.6	1258	234	1054	275
p-cimeno	2.0	1285	248	1017	258
amil isovalerato	0.1	-	-	1094	294
3-octanol	0.3	1388	298	983	242
1-octen-3-ol	0.3	1469	340	966	232
Mentona	11.1	1480	347	1142	320
Bicicloelemento	0.5	1487	351	1499	493
Isomentona	8.3	1506	360	1151	326
Linalol	20.3	1545	377	1090	293
Trans-isopulegona	0.9	1590	396	1158	329
Cis-isopulegona	2.7	1602	400	1157	329
β -cariofileno	6.5	1622	410	1428	464
Pulegona	27.2	1676	439	1226	365

α -humuleno	0.3	1689	447	1460	478
α -terpineol	0.5	1701	454	1178	341
Piperitona	0.2	1728	467	1234	368
Biciclogermacreno	8.2	1762	479	1500	497
Acetato de geranil	0.2	1773	484	1359	428
Acetato de timil	0.8	1863	527	1339	417
Acetato de carvacril	0.4	1886	539	1346	421
Piperitenona	0.4	1956	571	1316	406
Oxido de cariofileno	0.3	2021	600	1582	540
E-nerolidol	0.1	2072	625	1549	522
Espatuleno	0.8	2149	662	1575	536
Carvacrol	0.6	2190	680	1278	388
Timol	0.6	2224	700	1267	383
Isoespatuleno	0.3	2248	706	1603	563
Aromadendreno	0.2	-	-	1467	481
Germacreno B	0.3	-	-	1480	488

Tomado de: Carhuapoma Yance M. Composición química, actividad anti-*Helicobacter pylori* y antioxidante del aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling “Urq muña” [tesis doctoral]. Lima: UNMSM; 2007.

ANEXO 10

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Gel de *Satureja brevicalyx* Epling “Inca Muña, Miconazol 20mg/g (Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK)

Paciente	Prótesis total	Prótesis parcial removible	Pacientes no portadores
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			

ANEXO 11

**EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Satureja brevicalyx*
Epling “Inca Muña”**

Figura 1. Laboratorio de operaciones y Procesos unitarios.



Figura 2. *Satureja brevicalyz* Epling “Inca Muña”



Figura 3. Destilador por arrastre a vapor



Figura 4. Destilación del aceite esencial

ANEXO 12

ELABORACIÓN DEL GEL



Figura 5. Materias primas utilizadas en la formulación de gel de *Satureja brevicalyz Epling* "Inca Muña"

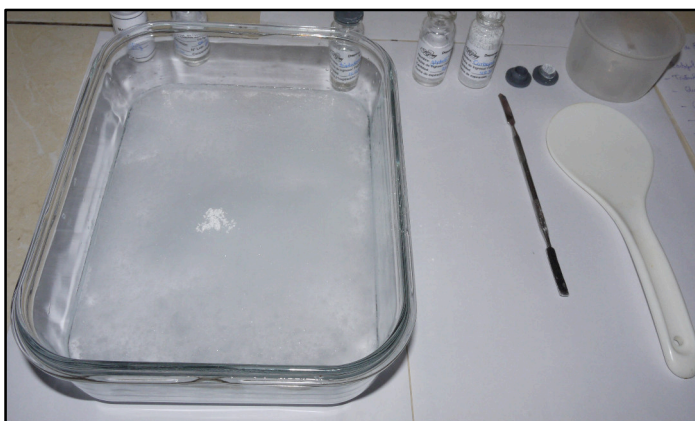


Figura 6. Recipiente para preparación de gel

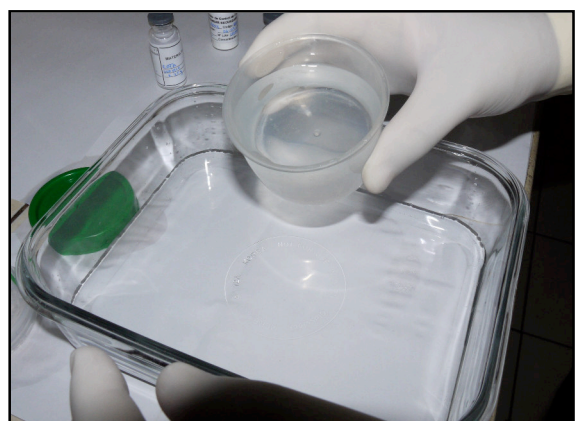


Figura 7. Inicio de la adición de Materia prima



Figura 8. Adición de trietanolamina



Figura 9. Adición de aceite esencial



Figura 10. Envasado de gel *Satureja brevicalyx*

Epling “Inca Muña”

ANEXO 13

RECOLECCIÓN DE MUESTRA

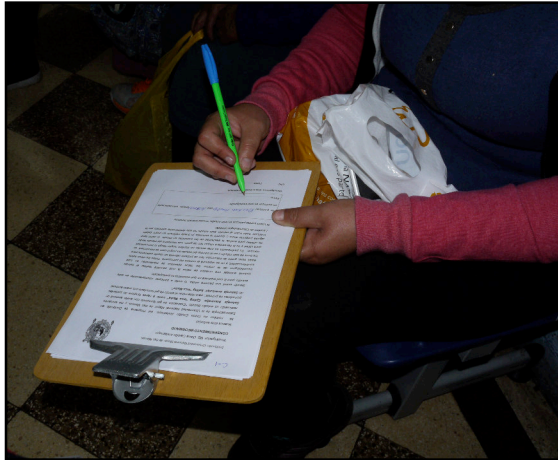


Figura 11. Firma de consentimiento informado
De pacientes



Figura 12. Toma de muestra de
No portadores prótesis



Figura 13. Toma de muestra de paciente portador de
Pacientes portadores de prótesis total

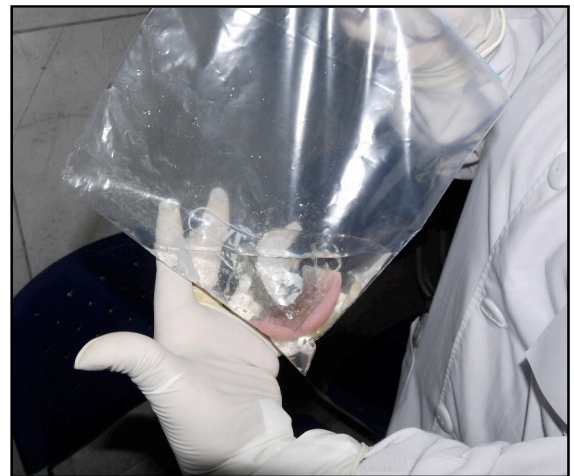


Figura 14. Toma de muestra de
pacientes portadores de
Prótesis parcial removible



Figura 15. Friccionamiento de las prótesis



Figura 16. Transporte de muestras

ANEXO 14

PROCEDIMIENTOS MICROBIOLÓGICOS



Figura 17. Estufa de incubación

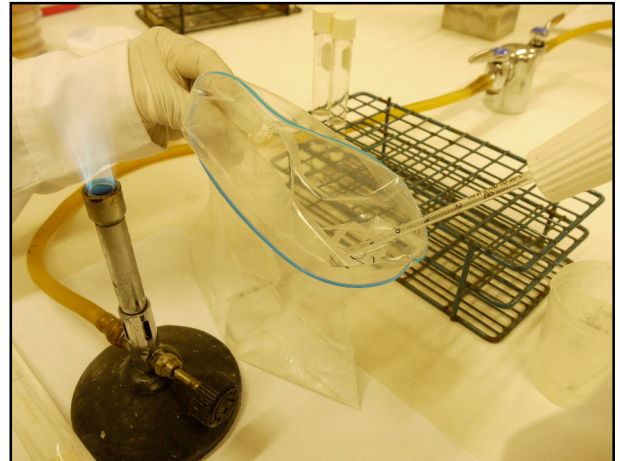


Figura 18. Procesamiento de muestra
pacientes portadores de
prótesis



Figura 19. Procesamiento de muestra
Pacientes no portadores

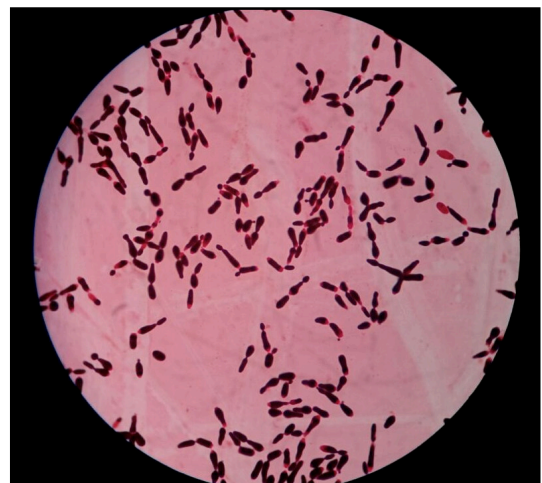


Figura 20. Tinción Gram

PRUEBA DE TUBO GERMINATIVO, CLAMIDOSPORA Y AUXONOGRAMA DE CARBOHIDRATOS



Figura 21. Recolección de cepa fúngica

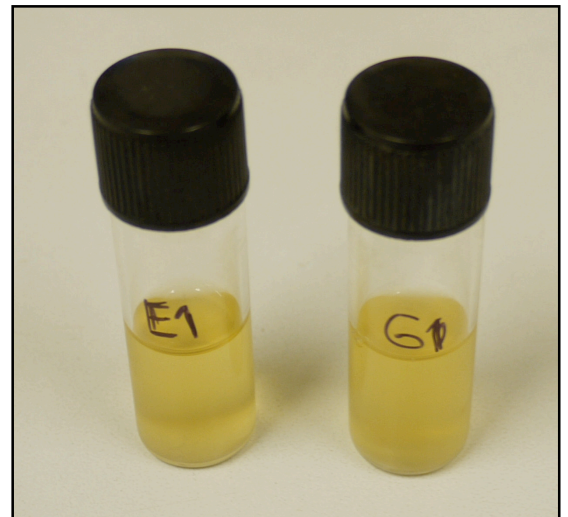


Figura 22. Vial germinativo



Figura 23. Prueba de tubo germinativo

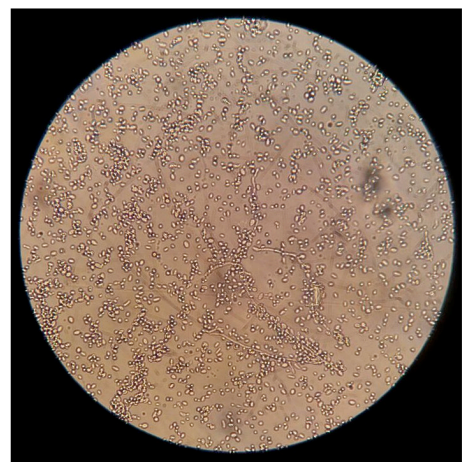


Figura 24. Prueba de clamidospora

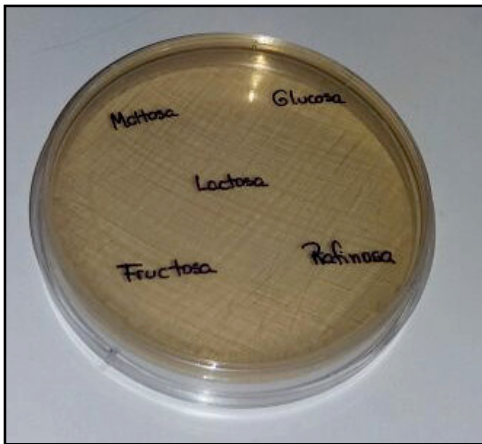


Figura 25. Carbohidratos



Figura 26. Auxonograma de carbohidratos

**PRUEBA DE DIFUSIÓN EN POCILLOS PARA DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD
ANTIFÚNGICA DE GEL**



Figura 27. Inóculo



Figura 28. Agar líquido

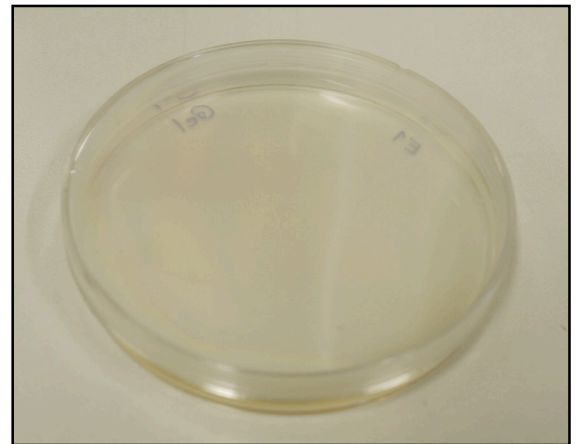


Figura 29. Agar gelificado



Figura 30. Aplicación de gel ”

Satureja brevicalyx Epling

“Inca Muña



Figura 31. Aplicación de gel

miconazol 20mg/g

(Daktarin® gel, Janssen-
Cilag, High Wycombe, UK)

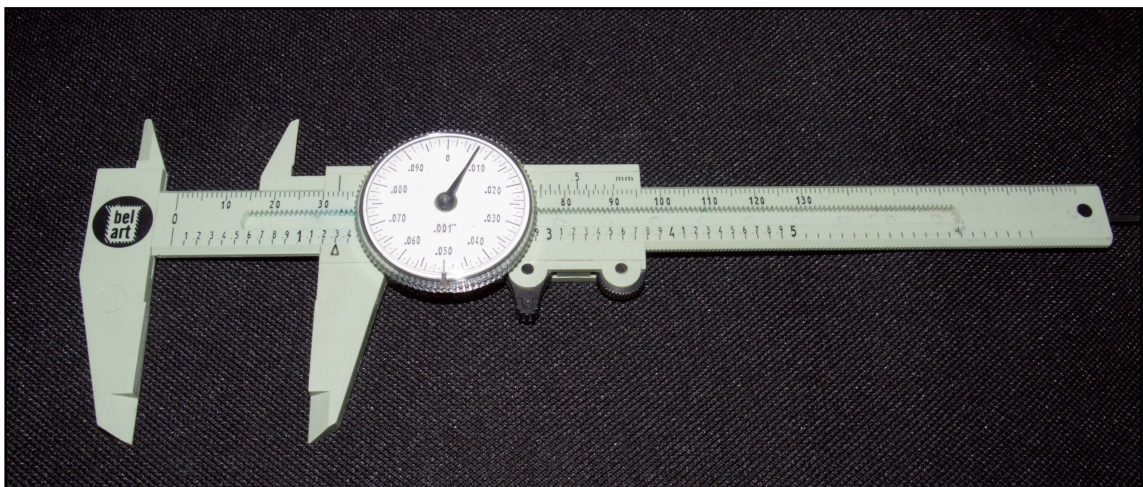


Figura 32. Vernier

ANEXO 15

HALOS DE INHIBICIÓN

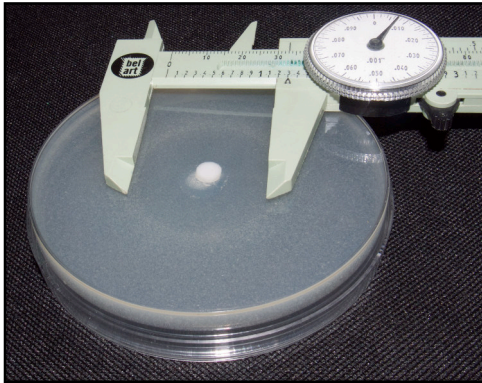


Figura 33. Halo de inhibición con miconazol 20mg
(Daktarin® gel, Janssen-Cilag, High Wycombe, UK)

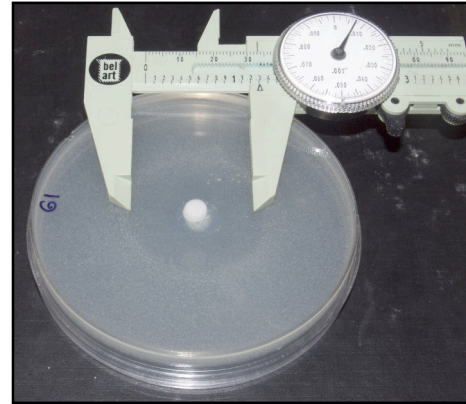


Figura 34. Halo de inhibición con
Satureja brevicalyx Epling” Inca
Muña”

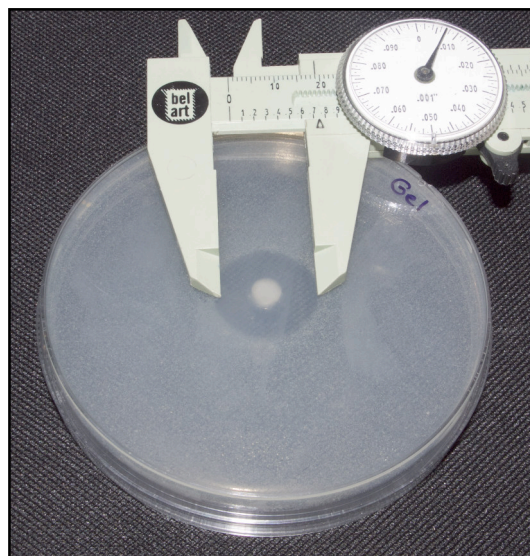


Figura 35. Halo de inhibición con *Satureja brevicalyx* Epling
“Inca Muña”

